

Jaarverslag 2014

Dierexperimentencommissie Utrecht

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



Colofon

Uitgave 2015
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
Medewerkers UMC en UU

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 2014

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	9
4. Samenstelling en werkwijze commissie	10
5. Vergaderingen: regulier en gezamenlijk	11
6. Scholing	13
7. Het bureau van de DEC	14
8. Kring waarvoor de commissie toetst	14
9. Financiering	14
10. Protocollen	15
Bijlage 1.1 – Reglement DEC	47
Bijlage 1.2 – Samenstelling DEC Utrecht	53

Deel 2 – Lekensamenvattingen

Kamer I	57
Kamer II	161
Kamer III	265

Deel 3 – Overzicht behandelde DEC-aanvragen 2014

Kamer I	369
Kamer II	389
Kamer III	411



Voorwoord

Geachte lezer,

Vorig jaar schreef ik U dat het jaarverslag van 2013 het laatste jaarverslag in deze vorm zou zijn. De wetgever heeft er echter nog bijna 12 maanden voor nodig gehad om de hierziene Wet op de dierproeven door de Tweede en Eerste Kamer te krijgen. Op 18 december 2014 is de herziene Wet op de dierproeven in werking getreden. Niet 2014, maar 2015 gaat dus een jaar worden waarin het nodige zal gaan veranderen voor wat betreft de opzet, samenstelling en werkwijze van de dierexperimentencommissies in Nederland.

Voor U ligt nu echt 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 2014. 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



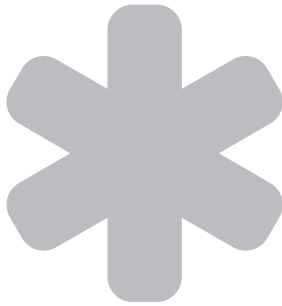
Wetenschap zonder geweten is verderf
van de ziel.

- Francois Rabelais -

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.

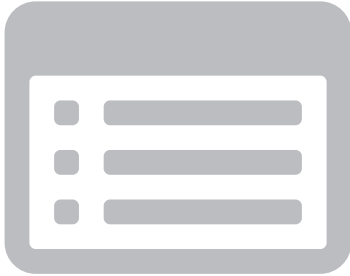
2. Plaats van de Dierexperimentencommissie (DEC) Utrecht in de om advies vragende organisaties

Iedere instelling die onderzoek of onderwijs doet met proefdieren moet hiervoor een vergunning hebben die wordt verleend door de Minister van 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.

Foto rechts: Muisjes in kooi met kooiverrijking







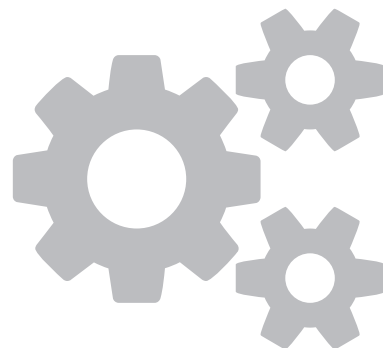
3. Taakomschrijving DEC

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 2014 17 leden, voor het merendeel werkzaam in het UMC Utrecht of aan de Universiteit Utrecht. Eén vacature is niet opgevuld. Het betreft een boventallige vacature die i.v.m. de geplande wijziging van de Wod niet meer is ingevuld. De commissie bestaat uit drie “Kamers”, elk met een eigen aandachtsgebied (zie onder). Externe leden zijn onder meer afkomstig van het RIVM, het Ethiek Instituut e.d.. 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.

b) Werkwijze

De werkwijze van de DEC staat vermeld in het reglement (zie bijlage 1.1).

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.

5. Vergaderingen: regulier en gezamenlijk

In 2014 is de DEC Utrecht 37 maal bijeen geweest, dat wil zeggen dat iedere Kamer 12 maal (1 maal per maand) projecten heeft beoordeeld. Voor Kamer II is in december een extra vergadering ingelast in verband met de grote hoeveelheid aanvragen. Daarnaast hebben er twee 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 en met het invoeren van de nieuwe Europese Richtlijn. Er heeft tevens één bijeenkomst met de voorzitter en vice-voorzitters van de DEC, een aantal onderzoekers en de IvD plaatsgevonden. Deze bijeenkomst had tot doel om te 'oefenen' met de nieuwe, door de CCD opgestelde, projectformulieren.

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 5 februari 2014 zijn o.a. de volgende zaken aan de orde gesteld:

- Medewerker UU en intern lid DEC, Dierenwelzijn in de Intensieve Dierhouderij: de rol van de DEC
- Extern lid DEC, Update Translationele robuustheid en translatie strategie
- Proefdierdeskundigen, Beleid anesthesie bij hartpunctie
- Proefdierdeskundigen, Toelichting op de tabellen (handelingen, ongerief) in het werkprotocol

Tijdens het gezamenlijk overleg op 4 juni 2014 is het volgende aan de orde gesteld:

- Voorzitter DEC Utrecht en decaan Diergeneeskunde UU, Stand van zaken m.b.t. de herziene Wet op de Dierproeven.







6. Scholing

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

- Biotechnische dagen 2014
- World Congress on Alternatives and Animal use in Life Sciences, Praag
- ECPHM congress, Sorrento
- Techniplast seminar IVC huisvesting, Italie
- 9e World Congress on Alternatives and Animal use in Life Sciences, Praag
- Seminar Transgenesis, Harlan

*Ratten in dierkamer in het
dierenlaboratorium*

7. Het Bureau van de DEC

De DEC wordt ondersteund door de secretaris DEC Utrecht, en enkele (student-)secretaresses. Het Bureau draagt, onder andere, zorg voor de voorbereiding en verslaglegging van de vergaderingen en de administratieve afwikkeling van besluiten over ingediende onderzoeksprotocollen en de bijbehorende correspondentie. 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 2014 is er één nieuwsbrief verzonden. In de loop van 2014 is de IvD gestart met het regelmatig uitbrengen van nieuwsbrieven. Afgesproken is dat de DEC en de IvD informatie m.b.t. (de invoering van) de herziene Wod gezamenlijk, via de nieuwsbrief van de IvD, bekend maken aan onderzoekers.



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 winst oogmerk 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 werden gedaan met behulp van een daartoe ontworpen digitaal formulier (voorheen te vinden op www.dec-utrecht.nl).

De DEC beoordeelde 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.



- 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 geschikt? 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 maakte 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 werden alle nieuwe en vervolg aanvragen eerst gezien door de proefdierdeskundige.

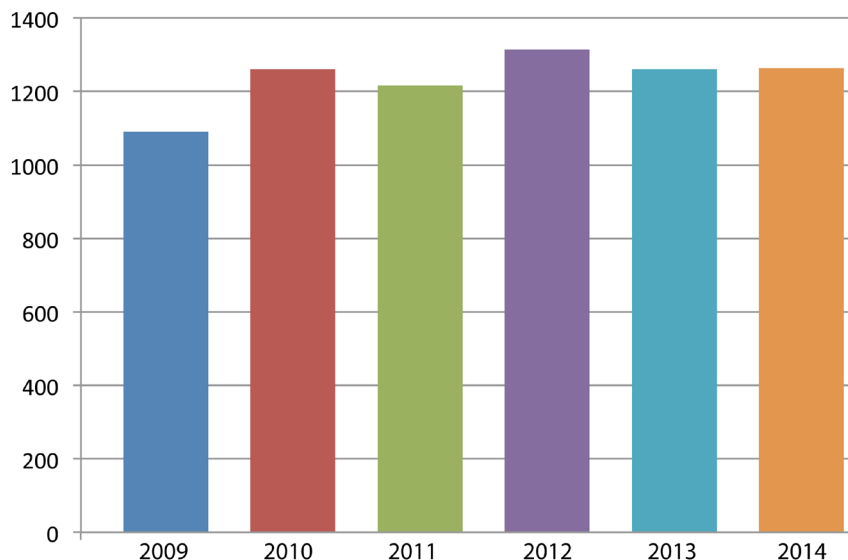
Positief advies (direct)	194
Positief advies (indirect)	149
Aanhouden/ Intentie positief advies, nog niet afgehandeld	2
Continuering positief advies (direct)	33
Continuering positief advies (indirect)	22
Aanvraag na behandeling ingetrokken	3
Totaal aantal onderzoeksprojecten	403

Positief voor wijziging (direct)	843
Positief voor wijziging (indirect)	13
Afgewezen voor wijziging	5
Totaal aantal kleine wijzigingen	861

Antwoorden op vragen/ Positief advies reeds gegeven	161
Afgewezen (2x wegens administratieve redenen, 1x geen DEC)	3
Positief advies voor terugrapportage	21
Afgewezen voor terugrapportage	1
Overname DEC-advies	11

b) Advisering:

In 2014 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 403. Over 1037 aanvragen werd direct positief geadviseerd, al dan niet met op- of aanmerkingen. Zonder kleine wijzigingen waren dit 194 aanvragen. Het gaat hierbij om nieuwe of vervolg aanvragen. De commissie heeft 162 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. 2 Aanvragen zijn na discussie met de DEC nog aangehouden of hebben een intentie tot positief advies gekregen (zijn in 2014 dus niet van een advies voorzien). Er zijn 55 terugrapportages ter continuering van het positief advies ingediend en goedgekeurd. 5 Aanvragen voor een kleine wijziging zijn afgewezen om administratieve redenen. Verder zijn er nog 22 terugrapportages ingediend, waarvan 1 terugrapportage om administratieve reden is afgewezen, 161 antwoorden op reeds goed gekeurde aanvragen behandeld en 11 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.



Figuur 1: Aantal behandelde aanvragen (inclusief kleine wijzigingen) over de jaren 2009-2014





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.

Tijdens de behandeling van aanvragen is de DEC altijd alert op de 3V's en probeert zij deze waar mogelijk toe te passen, ook al betekent dit dat aanvragen soms meerdere keren dienen te worden aangehouden en herschreven. Hierna volgen twee casussen waarin in ieder geval één van de drie V's heel duidelijk wordt toegepast door de DEC, namelijk Verfijning.



c) Uitwerking twee casussen

Casus 1: Het opzetten van een nieuw model; verfijning

Titel studie: Initiële experimenten voor het opzetten van het Marmarou Traumatic Brain Injury model in Utrecht

DEC nummer: 2014.I.08.049

Initiële experimenten voor het opzetten van het Marmarou "Traumatic Brain Injury" model in Utrecht

Achtergrond: Als gevolg van een klap of stoot tegen het hoofd kan er traumatisch hersenletsel ontstaan. Afhankelijk van de kracht van de klap kunnen de hersenen in meer of mindere mate beschadigd worden en kunnen patiënten allerlei neurologische afwijkingen vertonen. Wereldwijd ondervinden ongeveer 10 miljoen mensen de nadelige gevolgen van traumatisch hersenletsel. In de VS alleen al worden de kosten voor de medische zorg geschat op 56 miljard (!!) dollar per jaar. Traumatisch hersenletsel is geassocieerd met diffuse schade (= schade niet aanwijsbaar op één plek/verspreid in de hersenen) aan hersenweefsel wat heel lastig is op te sporen met conventionele MRI technieken. Het doel van de overkoepelende onderzoekslijn is de ontwikkeling van traumatisch hersenletsel in de tijd te volgen in een diermodel, m.b.v. geavanceerdere MRI technieken die structurele en functionele verbindingen visualiseren in de hersenen. Men denkt dat veranderingen in deze verbindingen representatief zijn voor de optredende diffuse schade. Deze veranderingen in verbindingen zullen worden gekoppeld aan onderliggende cellulaire en moleculaire veranderingen. Uiteindelijk kan zo de weg worden vrij gemaakt voor onderzoek aan eventuele succesvolle therapieën. Dit zal gebeuren in een diermodel dat representatief is voor zowel een milde als ernstige vorm van traumatisch hersenletsel omdat bij mensen is gebleken dat zelfs na een milde klap tegen het hoofd cognitieve veranderingen kunnen ontstaan later in het leven.

Doel/hypothese: Het doel van de aanvraag is: 1) Het opzetten van een dierexperimenteel model voor mild traumatisch hersenletsel. 2) Het karakteriseren van de progressie van een milde vorm van traumatisch hersenletsel met MRI, gedragsproeven en biomoleculaire/histologische technieken.

Globale aanpak vraagstelling: Er zal gebruik worden gemaakt van een diermodel voor traumatisch hersenletsel waarbij een gewicht van 450 gram gecontroleerd valt op een stalen helm die tijdelijk vast zit op de schedel van een rat. Dit gewicht kan op een variabele hoogte worden losgelaten om zo de ernst van traumatisch hersenletsel te variëren. Door andere onderzoekers werden de gevolgen van de impact na een valhoogte van 1 meter gedefinieerd als een milde vorm van traumatisch hersenletsel. In deze aanvraag zal het model voor de milde vorm van traumatisch hersenletsel worden opgezet. Volgens zullen dieren met traumatisch hersenletsel meerdere malen worden bestudeerd met MRI om zo schade en/of herstel te karakteriseren. De focus ligt dan vooral op de visualisatie van verbindingen tussen specifieke hersengebieden. Subpopulaties van dieren zullen worden gedood op karakteristieke tijdstippen na inductie van traumatisch hersenletsel en MRI resultaten zullen worden gekoppeld aan een gedegen structureel en biomoleculair onderzoek om de moleculaire en cellulaire processen aan te wijzen die verantwoordelijk zijn voor schade en eventueel herstel. Tot slot zal worden onderzocht of de eerste MRI meting voorspellend kan zijn voor de het verdere verloop van traumatisch hersenletsel in de dieren. Een gedegen histologisch onderzoek is essentieel in deze aanvraag om veranderingen in MRI parameters te kunnen duiden. Dit kan niet in patiënten en maakt het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

In kamer I worden door de DEC alle aanvragen behandeld die te maken hebben met Hersenen & Gedrag. 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.

Na uitvoerige bespreking van de aanvraag in de DEC-vergadering is de aanvraag aangehouden en zijn aan de onderzoeker de hiernaast weergegeven vragen voorgelegd en is de onderzoeker uitgenodigd voor een mondelinge toelichting tijdens de volgende DEC-vergadering. Omdat het gaat om een ernstig model met een follow-up van 6 maanden zonder dat daar adequate pijnstilling tegenover staat, heeft de DEC bezwaar tegen deze opzet. Daarnaast is de achtergrond en motivatie voor het gebruik van dit ernstige model onvoldoende verwoord in de aanvraag.

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:

- De DEC acht dit een fors model en wil daar graag met u over overleggen in de DEC-vergadering van 10 september aanstaande om 10.00 uur.
- Voor de DEC is de zes maanden follow-up met naar verwachting ernstige hoofdpijn, zonder pijnbestrijding een zwaar wegende reden om dit onderzoek aan te houden. De DEC heeft in de vergadering gesproken over de mogelijkheid van een pilot waarbij u wel pijnbestrijding toepast om te zien in hoeverre pijnbestrijding echt niet mogelijk is. Graag uw visie.
- A5, maatschappelijk belang: Het maatschappelijke belang van het onderzoek is naar de mening van de DEC onvoldoende verwoord. Graag nader toelichten.
- B4a: De DEC vraagt zich af of er in de literatuur meer modellen bekend zijn. Graag toelichten en beargumenteren waarom u deze niet gebruikt.
- WP1, 2a en 2b: Er is sprake van een discrepantie in het aantal dieren. Graag aanpassen.
- WP1 en 2, tabel 6b punt 7 en tabel 7b punten 2 en 3: Gezien de duur van de hoofdpijn vraagt de DEC zich af of de ongeriefinschatting niet aan de lage kant is en moet worden aangepast naar ernstig ongerief. Graag uw visie.
- WP1 en 2, tabel 6b punt 7 en tabel 7b punten 2 en 3: De DEC verzoekt u de gevolgen van de TBI, zoals ademdepressie, hoofdpijn, mogelijke misselijkheid en mogelijke schedelbasisfractuur voor wat betreft het ongerief uit te splitsen in de tabellen. Graag aanpassen.
- WP1 en 2, 7c: De DEC verzoekt u te specificeren ten opzichte van wat u 20% gewichtsverlies meet. Graag aanpassen.
- WP1 en 2, 8: Het totaal aan handelingen in 6c moet zijn 6b en 7b. Graag wijzigen.

De DEC verzoekt u op de vragen en/of opmerkingen puntsgewijs te reageren via het tabblad “reacties/bijlagen” of in een apart toegevoegde bijlage en dit ook te verwerken in de aanvraag.

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

Beste leden van de DEC,

Vind hieronder mijn antwoorden op u opmerkingen/vragen.

De DEC acht dit een fors model en wil daar graag met u over overleggen in de DEC-vergadering van 10 september aanstaande om 10.00 uur.

Beste leden van de DEC. TBI is zelf ook een ingrijpende ziekte. Elk representatief model zal daardoor natuurlijk ook in min of meerdere mate ingrijpend zijn. Het is natuurlijk in het belang van de dieren om het ongerief zo veel mogelijk te beperken. Ik ben daarom graag op 10 september aanwezig voor overleg.

Voor de DEC is de zes maanden follow-up met naar verwachting ernstige hoofdpijn, zonder pijnbestrijding een zwaar wegende reden om dit onderzoek aan te houden. De DEC heeft in de vergadering gesproken over de mogelijkheid van een pilot waarbij u wel pijnbestrijding toepast om te zien in hoeverre pijnbestrijding echt niet mogelijk is. Graag uw visie.

Beste leden van de DEC. Zoals aangegeven in de aanvraag en in overeenstemming met gegevens uit de literatuur duurt pijnbestrijding in de ernstige vorm van TBI (gewicht van 2 meter) maximaal 2 dagen. Volgens mij is het van belang om zo dicht mogelijk bij de originele literatuur te blijven. Het liefst wil ik dan ook niet afwijken van de duur van pijnbestrijding. Bij onderzoekscentrum X (in overleg met dr ...) is de ervaring dat 1 dag na opwekken van TBI (een gewicht van 300 gram valt vanaf 2 meter) de dieren bijna geen gebreken meer laten zien. Na 3 dagen is er zelfs gedragsmatig bijna niets meer te zien. Onderzoekscentrum X induceert een iets mildere vorm van TBI (wij zullen 450 gram gebruiken, hierboven krijgen de dieren te veel last van een schedelbasis fractuur). Verder beperkt men de inzet van Temgesic ook omdat het de voedselopname remt wat zorgt voor extra onnodig en gevaarlijk gewichtsverlies.

Stel dat de DEC bij zijn advies blijft een pilot op te starten dan is het me niet duidelijk hoe dit experiment er uit moet zien. Ik kan me voorstellen dat ik 2 groepen opstart waarvan er één 2 dagen pijnbestrijding krijgt en de andere meer dan 2 dagen (de huidige pilot aanvraag stopt bij 2 dagen) en dat er dan wordt gekeken naar verschillen in ontwikkeling van pathologieën in de sub-acute/chronische fase (bijvoorbeeld na 1 week/1 maand). De uitlees parameters zullen dan MRI (veel ervaring) en/of histologie (minder ervaring) zijn. Tenzij de verschillen groot zijn zullen hiervoor veel dieren moeten worden gereserveerd en zal er toch een groep moeten worden geïncubeerd met minimale pijnbestrijding. Ik wil hierover graag met de DEC in overleg treden op 10 september.

Overigens, voor patiënten met TBI wordt in de acute fase voornamelijk paracetamol gebruikt voor pijnbestrijding. Indien de pijn blijft aanhouden wordt het ook in de latere fase onderdrukt met paracetamol. Slechts in enkele gevallen wordt er morfine (lage doseringen) toegediend (overleg neuroloog/protocollen Nederlandse Vereniging van Neurologie).

A5, maatschappelijk belang: Het maatschappelijke belang van het onderzoek is naar de mening van de DEC onvoldoende verwoord. Graag nader toelichten.

Ik heb het maatschappelijk belang verder uitgediept.

B4a: De DEC vraagt zich af of er in de literatuur meer modellen bekend zijn. Graag toelichten en beargumenteren waarom u deze niet gebruikt.

Er zijn inderdaad veel modellen bekend in de literatuur die in meer of mindere mate invasief zijn. Zie (Xiong Nature Reviews Neuroscience 14 2013) en voornamelijk figuur 1 (Xiong; Figuur 1)

Factoren die variëren zijn:

- de locatie van het toedienen van schade;
- is de plek van de schade lokaal (beperkt gebied van de schedel) of globaal (over de hele schedel);
- het al dan niet openen van de schedel (niet gewenst voor MRI onderzoek omdat de operatie onnodig bloedingen/oedeem veroorzaakt);
- contact (meeste modellen) of geen contact (luchtdruk) bij toedienen van schade.

Van belang voor ons onderzoek is dat er sprake is van globale diffuse schade in de hersenen als gevolg van de impact (het volgen van diffuse schade is een essentiële vraagstelling), de mate van schade kan worden gevarieerd (van mild tot ernstig), het toedienen van schade redelijk non-invasief is (geen craniotomie!), er een overeenkomst is met humane pathologie en dat het goed gekarakteriseerd is. Het Marmarou model combineert bijna al deze eigenschappen. Het is daarom ook een van de meest gebruikte modellen voor TBI onderzoek. Voor en nadelen van de verschillende modellen worden beschreven in tabel 1 (Xiong; Tabel 1) en tabel 2 (Xiong; Tabel 2) > Marmarou: veel diffuse axonal damage (=traumatic axonal injury) van bovenstaand artikel.

Tot slot is het ook van belang om te melden dat de originele subsidieaanvraag gebaseerd is op het Marmarou model. Ik besef terdege dat dit geen argument zal zijn voor het al dan niet goedkeuren van de aanvraag maar ik had het toch graag vermeld.

WP1, 2a en 2b: Er is sprake van een discrepantie in het aantal dieren. Graag aanpassen.

Aangepast naar 6 dieren

WP1 en 2, tabel 6b punt 7 en tabel 7b punten 2 en 3: Gezien de duur van de hoofdpijn vraagt de DEC zich af of de ongeriefinschatting niet aan de lage kant is en moet worden aangepast naar ernstig ongerief. Graag uw visie.

Ik ben het eens met de DEC dat het ongerief mogelijk te laag is geschat. In onderzoekscen-trum X wordt dus een iets mildere vorm van TBI opgewekt (gewicht van 300 gram, i.p.v. 450 gram, laten vallen vanaf 2 meter: gekarakteriseerd als matig tot ernstig ongerief). Ik stel dan ook voor het ongerief te verhogen naar ernstig (aangepast in WP-1/2).

WP1 en 2, tabel 6b punt 7 en tabel 7b punten 2 en 3: De DEC verzoekt u de gevolgen van de TBI, zoals ademdepressie, hoofdpijn, mogelijke misselijkheid en mogelijke schedelbasis-fractuur voor wat betreft het ongerief uit te splitsen in de tabellen. Graag aanpassen.

De tabellen zijn aangepast met de volgende opmerkingen:

Ademdepressie gebeurt tijdens de inductie van TBI als de dieren onder anesthesie zijn.

Dieren kunnen hierdoor overlijden, echter ongerief is afwezig (anesthesie). Ademdepressie is een acuut gevolg van de impact en wordt mogelijk veroorzaakt door de opbouwende druk

in de schedelpan die drukt op het ademcentrum. Overleven de dieren deze eerste periode, al dan niet met mechanische beademing, dan overlijden ze in een latere fase niet door ademdepressie. Ademdepressie is daarom niet opgenomen in punt 7.

Wat betreft de schedelbasis fractuur. Indien deze opgemerkt wordt door MRI of door visuele inspectie na het MRI experiment (dieren nog steeds onder anesthesie) dan zullen de dieren uit het experiment worden gehaald. Toch kan het voorkomen dat de fractuur niet wordt opgemerkt. Vandaar dat ik de aanwezigheid wel heb opgenomen.

Aanpassingen zullen ook worden doorgevoerd in het "Vastlegging_geplande_handelingen" document (niet bijgesloten).

WP1 en 2, 7c: De DEC verzoekt u te specificeren ten opzichte van wat u 20% gewichtsverlies meet. Graag aanpassen.

Gewichtsverlies is t.o.v. het gewicht voor inductie van TBI. De tabel is aangepast.

WP1 en 2, 8: Totaal aan handelingen 6c moet zijn 6b en 7b. Graag wijzigen.

Aangepast en verhoogd naar ernstig. De zin "De gevolgen van ernstig TBI worden ingeschaald als matig tot ernstig ongerief" is verwijderd omdat hier sprake was van een mildere vorm van TBI.

Ik hoop dat ik de DEC hebben kunnen overtuigen van het belang van het onderzoek.

Met vriendelijke groet

Naast schriftelijke beantwoording van de vragen van de DEC heeft de onderzoeker tijdens de daaropvolgende vergadering het onderzoeksmodel, de opzet van het model en de ratio voor de geringe pijnbestrijding ook nog mondeling nader toegelicht. DEC is van mening dat het beter zou zijn om de opstelling van onderzoekscentrum X te gebruiken, zodat er samengewerkt kan worden, temeer daar onderzoekscentrum X ook schade ziet bij het gebruik van 300 gram en dit minder ongerief veroorzaakt (matig i.p.v. ernstig). Voor wat betreft de pijnstilling heeft de DEC tijdens het gesprek voorgesteld om eerst een pilot uit te voeren met twee groepen dieren, waarbij één groep wel pijnstilling krijgt en de andere niet, om zo te zien of en wat het verschil is tussen deze groepen. De onderzoeker verwacht dat het toedienen van pijnstilling wel invloed zal hebben op de hersenschade. De DEC is van mening dat het ook voor een betere translatie zou kunnen zorgen omdat humaan ook pijnstilling wordt toegediend. De DEC geeft de onderzoeker als advies mee om nog eens goed te kijken naar de translatiekracht van dit model voor de mens. De DEC heeft besloten de aanvraag wederom aan te houden en de onderzoeker nog de volgende vragen voorgelegd.

Continuering aanhouden.

De DEC dankt u voor uw mondelinge toelichting tijdens de DEC-vergadering op 10 september jl., maar is nog niet in staat om uw aanvraag van een advies te voorzien.

De DEC ontvangt graag uw reactie op de volgende punten:

De DEC is er niet van overtuigd dat het door u gewenste gewicht van 450 gram meerwaarde heeft, aangezien, volgens uw informatie, in onderzoekscentrum X met 300 gram voldoende schade wordt bereikt om het onderzoek uit te voeren. De DEC adviseert u daarom dringend contact op te nemen met de onderzoeksgroep in onderzoekscentrum X voor nader overleg betreffende dit model en de aanvraag hierop aan te passen.

Daarnaast verzoekt de DEC u de translatiekracht van het onderzoek, wat u met dit onderzoek beoogt in de toekomst en mogelijke interventies, beter te omschrijven in uw aanvraag. B1b: Graag beargumenteren waarom u slechts mannelijke ratten gebruikt voor uw onderzoek.

Hier heeft de onderzoeker als volgt op geantwoord.

Beste leden van de DEC

Vind hieronder mijn antwoorden op uw opmerkingen/vragen.

Het spijt me oprecht dat ik U niet heb kunnen overtuigen van de noodzaak voor het doen van het beschreven onderzoek. Ik dank de DEC voor de discussie die is gevoerd. Ik heb enkele belangrijke aanpassingen doorgevoerd om het experiment te verbeteren.

Voordat ik begin tot het beantwoorden van de door de DEC geformuleerde vragen nog het volgende:

1. Tijdens de discussie ben ik er van overtuigd geraakt dat het niet belangrijk is om het effect van het al dan niet beademen van dieren te onderzoeken. Dit is al in de literatuur uitvoerig beschreven. Alle dieren zullen dus worden beademd. De focus van de pilot aanvraag wordt nu, naast het initieel opzetten van het model (WP-1), of de dieren al dan niet een schedel fractuur krijgen na impact van een valgewicht van 450 gram van een hoogte van 2 meter (WP-2). WP-1 verandert niet, in WP-2 zal worden gekeken of het percentage dieren met een schedel fractuur minder is dan 12.5% bij inductie van de ernstige vorm van TBI. Er zijn allerlei aanpassingen doorgevoerd in deel A-5. In deel B-3a heb ik het gebruik van 10 dieren voor WP-2 proberen te rechtvaardigen.
2. Voor het vervolgonderzoek is het beter om alvast een interne controle MRI meting in te plannen voor TBI inductie (WP-1 en 2 aangepast). Dieren van het pilot-experiment kunnen dan makkelijker worden ingepast in de vervolgaanvraag.

Hieronder de specifieke antwoorden op de door de U gevraagde vragen/opmerkingen.

De DEC is er niet van overtuigd dat het door u gewenste gewicht van 450 gram meerwaarde heeft, aangezien, volgens uw informatie, in onderzoekscentrum X met 300 gram voldoende schade wordt bereikt om het onderzoek uit te voeren. De DEC adviseert u daarom dringend contact op te nemen met de onderzoeksgroep in onderzoekscentrum X voor nader overleg betreffende dit model en de aanvraag hierop aan te passen.

Ik heb overlegd met dr. ... van onderzoekscentrum X. Voor het opzetten dan het model is het belangrijk om een maximale mogelijke schade te induceren in de hersenen (zie deel A-5 "Achtergrond studie" voor uitleg). Ik heb mijn DEC aanvraag geschreven met de oorspronkelijke literatuur van Marmarou als de gouden standaard, d.w.z.: inductie van ernstig TBI in mannelijke SD ratten (350-400 gram, outbred) d.m.v. een valgewicht van 450 gram vanaf 2 meter. In onderzoekscentrum X wordt TBI geïnduceerd in mannelijke PVG ratten (171-294 gram, inbred stam) d.m.v. een valgewicht van 300 gram vanaf 2 meter. Boven de 300 gram wordt de uitval te groot omdat teveel dieren overlijden. In onderzoekscentrum X gaat men dus ook voor settings die een maximale schade (!) induceren. Het gebruik van PVG ratten in onderzoekscentrum X is vooral historisch gegroeid en gestuurd door eerder onderzoek. Hoogst waarschijnlijk is dit de verklaring (andere stam/lager gewicht) dat bij onderzoekscentrum X een lager maximaal gewicht wordt gevonden. Ik ben er zelf toch een voorstander van om me te houden aan de originele literatuur van Marmarou en anderen die met dit model werken om zo de vertaalslag naar de literatuur te houden. Omdat de opstelling in onderzoekscentrum X op dit moment niet wordt gebruikt kan ik deze (tijdelijk) lenen om de experimenten in Utrecht op te zetten. Mijn voorstel is dus om te blijven bij een valgewicht van 450 gram vanaf een hoogte van 2 meter in mannelijke SD ratten van 350-400 gram.

Daarnaast verzoekt de DEC u de translatiekracht van het onderzoek, wat u met dit onderzoek beoogt in de toekomst en mogelijke interventies, beter te omschrijven in uw aanvraag.

Het primaire doel van de onderzoekslijn is om m.b.v. structurele/functionele MRI de progressie van diffuse axonale schade te volgen in een diermodel van TBI en dit rechtstreeks te koppelen aan onderliggende moleculaire en cellulaire schade om zo te achterhalen welke processen verantwoordelijk zijn voor schade en eventueel herstel. Een secundair doel (niet het belangrijkste doel van het onderzoek, echter de MRI-data is wel aanwezig om dit te onderzoeken) is om te onderzoeken of MRI karakteristieken gebruikt kunnen worden als voorspeller voor het uiteindelijke lot van weefsel tijdens de progressie van schade. Dit is een belangrijk gegeven dat ook rechtstreeks vertaald kan worden naar klinisch onderzoek. Ik heb

getracht deze translatie beter te omschrijven in de aanvraag. Verder ben ik dieper ingegaan op therapieën die mogelijk getest kunnen worden in een vervolgaanvraag (zie A-5 “achtergrond studie”).

B1b: Graag beargumenteren waarom u slechts mannelijke ratten gebruikt voor uw onderzoek.

Onderzoek in het Marmarou model wordt bijna uitsluitend gedaan in mannelijke dieren. Verder is in de literatuur beschreven dat progesteron een potentieel neuroprotective werking heeft, wat het gebruik van vrouwelijke dieren ontmoedigt. Dit is vermeld in de aanvraag en WP's.

De gewijzigde aanvraag is wederom uitvoerig besproken in de DEC-vergadering. De DEC houdt substantieel bezwaar tegen het direct toebrengen van de maximale schade. Om die reden heeft de DEC nogmaals geadviseerd de opzet van het onderzoek aan te passen en te starten met het minder zware TBI model.

Continuering aanhouden.

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:

- De DEC verzoekt u concreet te beschrijven wat u precies wilt gaan meten en adviseert u ook in deze fase het moleculair-histochemisch onderzoek te incorporeren door het verzamelen van hersenmateriaal en samenwerking met onderzoeksgroepen uit onderzoekscentrum X en een buitenlandse partner.
- De DEC is niet overtuigd van het starten met de maximale schade en geeft een –bindend– advies om te beginnen met minder zware schade (een kleiner gewicht gebruiken of minder grote valhoogte) en daarna indien nodig toe te werken naar zwaardere schade. Graag aanpassen.

Reactie van de onderzoeker:

Beste leden van de DEC

De aanvraag is grotendeels herschreven. Het pilot karakter van de aanvraag is losgelaten. Dit maakte de aanvraag onnodig rommelig. Het vervolg experiment is nu ook opgenomen (voor de milde vorm van TBI). Dit is beter voor de vraagstelling/relevantie van het geheel. Verwijzingen naar de ernstige vorm van TBI zijn verwijderd.

Nog ter verduidelijking, het project is een samenwerking tussen Utrecht en een buitenlandse partner. De rol van onderzoekscentrum X is slechts adviserend. Onderzoekscentrum X zal niet actief werk uitvoeren voor het project.

Samengevat

In WP-1 zijn dieren gereserveerd voor het opzetten van de milde vorm van TBI. Er zal dan ook worden getest of dieren, ondanks een valhoogte van 1 meter, ernstig ongerief ondervinden t.g.v. letsel buiten de hersenen. Dit wordt trouwens niet verwacht.

In WP-2 wordt het milde model over de tijd gekarakteriseerd met MRI/gedragsproeven (Utrecht) en biochemische technieken (buitenlandse partner).

Voor WP-1 worden 6 dieren gereserveerd om het model op te zetten

Voor WP-2 worden 76 dieren gereserveerd voor het volgen van schade in het milde model

Voor de bepaling van het aantal dieren (WP-2) is er een nieuwe power berekening uitgevoerd.

Ik heb het maximale ongerief voor de dieren terug gebracht van ernstig naar matig/ernstig. Dit wordt nu bepaald door het model (minder erg) en de herhaalde MRI metingen in WP-2 (meer MRI metingen)

Met vriendelijke groet

De onderzoeker heeft het (bindende) advies van de DEC opgevolgd en de opzet van het onderzoek aangepast. De onderzoeker zal nu starten met een mildere vorm van het model en pijnbestrijding toepassen tot een dag na TBI inductie.

Met deze opzet kon de DEC instemmen en heeft de vergunninghouder geadviseerd de aanvraag van een positief advies te voorzien als volgt:

Onderzoeksplan	: Initiele experimenten voor het opzetten van het Marmarou Traumatic Brain Injury model in Utrecht
DEC-nummer	: 2014.I.08.049
Deelvergunningsnr.	: 11540
Advies d.d. 03-12-2014	: Positief advies tot 1 januari 2017 met voorwaarde
Aantal en soort	: WP1: 6 en WP2: 76 mannelijke Sprague Dawley ratten.
Geldstroom	: intern
Status	: nieuw

Behandeling: ☒ in DEC-vergadering d.d. 3 december 2014
☐ na advies proefdierdeskundige
☐ ambtelijke afhandeling
☐ anders:

Advies en voorwaarde(n):

Op grond van bovenstaande komt de commissie tot het oordeel dat de haar voorgelegde dierexperimenten ethisch toelaatbaar zijn en geeft een positief advies af.

De DEC verzoekt de vergunninghouder het volgende aan de onderzoeker voor te leggen:

Voorwaarde:

De DEC stelt als voorwaarde dat u eerst WP1 uitvoert. De DEC ontvangt hiervan graag een terugrapportage, waarin u de resultaten van het onderzoek, het werkelijke ongerief, de opgetreden schade (vastgesteld d.m.v. post mortem onderzoek inclusief de effecten op de hersenen) en de daadwerkelijke uitval bespreekt. Pas na goedkeuring van de terugrapportage door de DEC kunt u verder met WP2.

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

Op 3 december 2014 heeft de dierexperimentencommissie (DEC) aan de raad van bestuur advies uitgebracht over uw onderzoeksproject *Initiele experimenten voor het opzetten van het Marmarou Traumatic Brain Injury model in Utrecht*, DEC nummer 2014.I.08.049. 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 het, door de DEC goedgekeurde, meest recente werkprotocol bekend is bij de proefdierlocatie.

Met vriendelijke groet,



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

Casus 2: Regeneratie van botweefsel; verfijning & vermindering

Titel studie: Modulatie van botvorming door inductie van lokale ontsteking

DEC nummer: 2014.III.08.070

Het identificeren van bot stimulerende ontstekingsfactoren in een gevalideerd konijnen model

Achtergrond: Voor de regeneratie van botweefsel tijdens 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 en het feit dat er maar een beperkte hoeveelheid af te nemen bot is van de patiënt. Er zijn dus alternatieve bot vervangingsconstructen nodig. Het gebruik van geladen dragermaterialen waaraan biologische componenten zijn toegevoegd t.b.v. bot vervanging wordt al enkele jaren onderzocht door verschillende groepen. In het huidige onderzoeksproject wordt gekeken hoe lokale ontstekingsprocessen gemoduleerd kunnen worden om bot regeneratie te stimuleren. Over het algemeen zorgen chronische ontstekingsprocessen voor een afbraak van botweefsel. Echter, in sommige gevallen wordt een acuut ontstekingsproces juist gevolgd door sterke botvorming. Voorbeelden hiervan vindt men bij de botgenezing na breuken, bot infecties of bij botvorming na beschadiging van spierweefsel. Daarnaast hebben experimenten met stamcellen aangetoond dat een aantal ontstekingsfactoren de differentiatie van deze stamcellen richting botcellen stimuleren. Het onderliggende mechanisme, de betrokken cellen en lokale factoren die in deze processen de botvorming stimuleren zijn nog grotendeels onbekend. Meer inzicht krijgen hierin kan mogelijk de bot regeneratie in bot vervangingsconstructen verbeteren. Op dit moment zijn er een aantal ontstekingsfactoren bekend die de differentiatie van stamcellen richting botcellen stimuleren. Het doel hier is om een aantal ontstekingsfactoren te screenen op botvorming in een geschikt preklinisch model. Dit model hebben we reeds gevalideerd in een voorgaande dierstudie.

Doel/hypothese: Het doel van de studie is het screenen van het effect van een aantal ontstekingsfactoren op de botvorming geïnduceerd door een keramisch dragermateriaal. Onze hypothese is dat het moduleren van een vroege ontstekingsrespons de BCP geïnduceerde botvorming zal stimuleren. De ontstekingsfactoren waarbij dit het geval is, zullen als model dienen voor meer mechanistische vervolgstudies.

Globale aanpak vraagstelling: Blokjes gemaakt van een poreus, keramisch dragermateriaal (BCP) worden onderhuids en in de spier geïmplantéerd in het konijn. Er kunnen 10 blokjes onderhuids, en 8 blokjes in de spier geïmplantéerd worden. Dit leverde in de vorige pilot studie geen complicaties op. Dit materiaal induceert door zijn chemische en mechanische eigenschappen de vorming van nieuw bot op het oppervlak van het materiaal. De BCP blokjes kunnen geladen worden met cellen of factoren om het effect van deze componenten op de botvorming te bestuderen. Wij zullen de BCP blokjes laden met verschillende ontstekingsfactoren, met lokale effecten. Tijdens een eerdere operatieve ingreep (6 weken eerder) worden eerst bot cement samples geïmplantéerd. Dit bot cement wordt in verloop van tijd ingekapseld door een membraan. Vervolgens wordt tijdens de tweede operatieve ingreep de botcement samples verwijderd uit het membraan en vervangen door de BCP blokjes (tijdstip 0). Zo kunnen de ontstekingsfactoren niet lekken naar omliggende weefsels. Na 12 weken BCP implantatie zullen de samples geëxplantéerd worden en nieuw gevormd bot in het materiaal worden gekwantificeerd.

Deze aanvraag is in kamer III behandeld, met o.a. expertise op het gebied van heilkunde en orthopedie. Na bespreking in de vergadering zijn door de DEC de volgende vragen gesteld aan de onderzoeker.

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:

- A5, opzet van de studie: De DEC vraagt zich af waarom u de doses BMP-2 test in dezelfde dieren die ook fluorochroom krijgen en of het niet mogelijk is om dit in andere dieren te doen. Op die manier wordt het ongerief over de dieren verspreid. Graag toelichten.
- A5, opzet van de studie en werkprotocol: De DEC mist in het werkprotocol de vier konijnen waarbij u een orthotopisch biomembraan model test. Als dit wel onderdeel is van het experiment, verzoekt de DEC u dit in een apart werkprotocol te beschrijven. Graag toelichten.
- B1b: De DEC is het niet eens de stelling dat mannetjes niet gezamenlijk gehuisvest kunnen worden. Volgens de DEC is dit wel mogelijk indien de mannetjes van jongs af aan samen huisvest worden en ze dus als koppel besteld bij de leverancier. Graag uw reactie.
- B3a: Gezien het aantal samples begrijpt de DEC dat u 14 dieren nodig hebt. Op verschillende plaatsen in de aanvraag hebt u het echter over een N=10 dieren. Dit werkt verwarrend. Daarnaast houdt u rekening met uitval, maar u geeft niet aan waar deze uitval uit bestaat en op is gebaseerd. Graag toelichten en aanpassen in de gehele aanvraag en bijlage.
- U geeft aan dat u het aantal samples s.c. verhoogt van 6 (vorige onderzoek) naar 10 en bij een aantal dieren zelfs naar 12 samples. De DEC vraagt zich af of dit vanuit dierwelzijn nog mogelijk is en verzoekt u contact op te nemen met de art.14 functionaris voor nader overleg. De DEC ontvangt graag het resultaat van dit gesprek.
- WP, 5b: De DEC vraagt zich af of de toedieningswijze van het rhBMP-2 eiwit niet zowel s.c. als i.m. moet zijn. Graag toelichten en eventueel aanpassen.
- WP, 5b: De DEC wijst u er, wellicht ten overvloede, op dat konijnen zeer gevoelig zijn voor LPS. Het is daarom zaak dat u het goede LPS kiest en u ervan verwittigt dat de concentraties veilig zijn.

De onderzoeker heeft hier schriftelijk, via de website van de DEC, als volgt op gereageerd.

A5, opzet van de studie: De DEC vraagt zich af waarom u de doses BMP-2 test in dezelfde dieren die ook fluorochroom krijgen en of het niet mogelijk is om dit in andere dieren te doen. Op die manier wordt het ongerief over de dieren verspreid. Graag toelichten.

Door de BMP-2 dosis studie in dezelfde ‘experimentele dieren’ (d.w.z. waarin we inflammatoire mediators testen) te testen kunnen we het aantal dieren verminderen, zonder dat dit ten koste gaat van het welzijn. Als de BMP-2 studie in aparte dieren gedaan zou worden, zou dit betekenen dat we 4 extra dieren nodig hebben waarbij we alleen een aantal sc samples implanteren, terwijl er in de rug van de konijn aanzienlijk meer ruimte is zowel sc als im samples tegelijkertijd. Dit is gebleken uit onze pilot studie. Het uitbreiden van het aantal locaties zal niet veel invloed hebben op het welzijn van de dieren, zoals ook besproken met de artikel 14 functionaris. We verwachten ook niet dat deze afzonderlijke studies een effect op elkaar hebben. De fluorochromen moeten juist in deze dieren getest worden om de botvorming door BMP-2/ontstekingsmediators in de tijd te volgen d.m.v. fluorochroom incorporatie. Om het ongerief zoveel mogelijk te verspreiden over de dieren, zullen we het semi-orthotopisch membraan model niet testen in de konijnen die ook fluorochromen toegediend krijgen. Hier zijn in het werkprotocol aparte groepen van gemaakt (groep 2 en 3).

A5, opzet van de studie en werkprotocol: De DEC mist in het werkprotocol de vier konijnen waarbij u een orthotopisch biomembraan model test. Als dit wel onderdeel is van het experiment, verzoekt de DEC u dit in een apart werkprotocol te beschrijven. Graag toelichten.

Uitleg semi-orthotopisch model (ook gewijzigd in aanvraag/werkprotocol): op één wervelniveau (L4) wordt het uiteinde van de processus spinosus verwijderd en wordt tussen de dorsale spiergroepen een kleine pocket gecreëerd waar één leeg BCP blokje geplaatst wordt. Dit wordt als proof of principal gedaan, we hebben eerder gezien dat dit gemakkelijk in de rat uitgevoerd kan worden. We denken dat dit model zonder problemen in ‘experimentele dieren’ getest kan worden. Door geen extra dieren te gebruiken, kunnen we het aantal dieren verminderen, zonder dat dit ten koste gaat van het welzijn. Anders zouden 4 extra dieren

gebruikt moeten worden voor een, naar onze mening, kleine ingreep. Om het ongerief zoveel mogelijk over de dieren te verspreid, zullen dieren die een extra orthotopische sample krijgen geen fluorochromen geïnjecteerd krijgen. Dit is mogelijk omdat we in het semi-orthotopisch model niet geïnteresseerd zijn in het verloop van de botvorming in de tijd, maar alleen de totale hoeveelheid bot na 12 weken. Fluorochromen zijn dus niet nodig. Ik heb hier aparte groepen van gemaakt in het werkprotocol:

groep 1: geen fluorochromen/geen orthotopische locatie

groep 2: fluorochromen

groep 3: semi-orthotopische locatie

B1b: De DEC is het niet eens de stelling dat mannetjes niet gezamenlijk gehuisvest kunnen worden. Volgens de DEC is dit wel mogelijk indien de mannetjes van jongs af aan samen huisvest worden en ze dus als koppel besteld bij de leverancier. Graag uw reactie.

Het klopt dat mannetjes konijnen makkelijker en langer gehuisvest kunnen worden als ze als koppel opgroeien. Echter, de medewerkers van het dierenlaboratorium en de art. 14 functionaris raden dit toch af omdat ze hier slechte ervaringen mee hebben. Op een gegeven moment/bij een bepaalde leeftijd zien ze dat er toch problemen ontstaan en moeten de dieren gescheiden worden. Onze konijnen zullen een leeftijd bereiken van 30 weken, waarbij de kans steeds groter wordt dat er problemen ontstaan. In de literatuur vind ik dat mannetjes konijnen, als koppel opgegroeid, alleen langdurig samen gehuisvest kunnen worden na castratie. Op dit moment lijkt het ons dus niet mogelijk om de mannetjes samen te huisvesten. Echter, als de DEC concrete voorbeelden heeft van hoe dit toch kan en ook de garantie biedt dat deze konijnen langdurig toch gehuisvest kunnen worden, zal dit zeker gedaan worden om het welzijn van de dieren te verbeteren.

B3a: Gezien het aantal samples begrijpt de DEC dat u 14 dieren nodig hebt. Op verschillende plaatsen in de aanvraag hebt u het echter over een N=10 dieren. Dit werkt verwarrend. Daarnaast houdt u rekening met uitval, maar u geeft niet aan waar deze uitval uit bestaat en op is gebaseerd. Graag toelichten en aanpassen in de gehele aanvraag en bijlage.

Niet alle dieren krijgen dezelfde samples geïmplant, vandaar dat er 14 dieren nodig voor een sample size van 10 voor het testen van de inflammatoire mediators. De DEC heeft gelijk dat er ergens N=10 konijnen stond, dit is niet correct en is gewijzigd. In de intramusculaire locatie krijgen de dieren 8 samples geïmplant (in de sc locatie zijn dit er 10, daarom is de im groep de limiterende factor) Intramusculaire BCP samples:

1. leeg (neg. controle, N=10)
2. BMP---2 (pos. controle, N=5)
3. TNF---a 1 (N=10)
4. TNF---a 2 (N=10)
5. TNF---a 3 (N=10)
6. LPS 1 (N=10)
7. LPS 2 (N=10)
8. LPS 3 (N=10)
9. LTA 1 (N=10)
10. LTA 2 (N=10)
11. LTA 3 (N=10)

In totaal zijn er dus 105 samples te verdelen over 8 locaties, wat betekent dat we hier 14 dieren voor nodig zullen hebben. De N=10 sample size is dus iets ruimer genomen met het oog op uitval dan wat statistisch gezien minimaal nodig is (N=8). Dit is besproken met de art. 14 functionaris en biedt garantie dat we toch statistische significantie kunnen aantonen bij uitval van maximaal 2 dieren. We verwachten geen uitval en dit aantal blijft arbitrair. Het gevolg van deze N=10 sample size is dat er 14 dieren nodig zijn. Ik zal dit beter aangeven in de aanvraag.

U geeft aan dat u het aantal samples s.c. verhoogt van 6 (vorige onderzoek) naar 10 en bij een aantal dieren zelfs naar 12 samples. De DEC vraagt zich af of dit vanuit dierwelzijn nog mogelijk is en verzoekt u contact op te nemen met de art.14 functionaris voor nader overleg. De DEC ontvangt graag het resultaat van dit gesprek.

Dit is reeds besproken met de art. 14 functionaris (afspraak op 6 juni 2014). We zijn tot de conclusie gekomen dat het implanteren van samples in de sc of im locatie op zichzelf maar geringe ongerief met zich meebrengt (hele procedure maakt het gering/matig). Na herstel

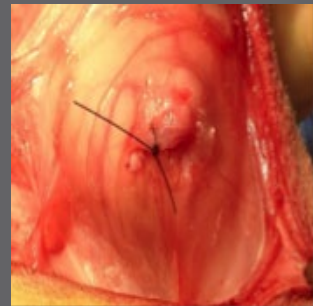
van de OKs, hadden de konijnen geen verminderde mobiliteit of tekenen van pijn als gevolg van aanwezigheid van de samples. Ook zagen we in onze pilot studie dat er genoeg ruimte was om het aantal samples uit te breiden zonder dat ze te dicht op elkaar gaan zitten. Door het aantal samples uit te breiden kunnen we dus het aantal dieren verminderen, zonder dat dit ten koste gaat van de welzijn.

WP, 5b: De DEC vraagt zich af of de toedieningswijze van het rhBMP-2 eiwit niet zowel s.c. als i.m. moet zijn. Graag toelichten en eventueel aanpassen.

Dit is aangepast. Intramusculair hebben we een minimale hoeveelheid botvorming gezien zonder toevoeging van BMP-2. Toevoeging van BMP-2 is hier dus niet nodig, met als uitzondering één sample (positieve controle). Dit was sc niet zo, vandaar dat hier BMP-2 toegevoegd moet worden om het effect van de ontstekingsmediatoren op de botvorming te bestuderen. Strikt genomen wordt BMP-2 dus inderdaad zowel im als sc toegediend.

WP, 5b: De DEC wijst u er, wellicht ten overvloede, op dat konijnen zeer gevoelig zijn voor LPS. Het is daarom zaak dat u het goede LPS kiest en u ervan verwittigt dat de concentraties veilig zijn.

We maken onze inschatting van de systemische effecten van de verschillende concentraties LPS op basis van literatuur. Systemische toediening van LPS veroorzaakt verschijnselen van sepsische shock (Zhang 2008). Systemische verschijnselen komen echter maar minimaal voor bij lokale toediening van LPS (in onze concentratie range) in konijnen, zoals hier het geval is. In sommige gevallen kan er na lokale toediening IL-6 lekken naar plasma, met verhoging van lichaamstemperatuur/koorts tot gevolg (Miller 1997). Dit heeft een piek na 5 uur en neemt dan af. Cartmell et al (2002) liet zien dat behandeling met LPS (10 microgram/kg) na 5 uur 1-1.5 graden verhoging van lichaamstemperatuur induceert. Wij gebruiken LPS van E.coli bacterie en kunnen in de literatuur geen aanwijzingen vinden dat LPS afkomstig van andere bacteriën een ander response opwekt. Dit verwachten we ook niet omdat ze structureel hetzelfde zijn en als hetzelfde herkend worden door het aangeboren immuunsysteem.



Operatie konijn: Eerst worden de PMMA schijven (bot cement samples) geïmplant. Vervolgens worden de schijven bij de tweede OK (na 6 weken) verwijderd. In de pocket die is ontstaan worden dan de keramische blokjes (BCP) geïmplant en dicht gehecht.

De DEC gaat echter niet akkoord met het berekenen van uitval als er geen verwachting van uitval is. Om die reden verzoekt de DEC de onderzoeker het aantal benodigde dieren naar beneden bij te stellen.

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:

- B3a: U geeft aan geen uitval te verwachten, maar toch rekent u met een N=10 i.p.v. een N=8. De DEC gaat daar niet mee akkoord. De DEC verzoekt u het aantal benodigde dieren te herberekenen op basis van een N=8. Mocht u in het eerste cohort van het onderzoek uitval van dieren hebben, dan kunt d.m.v. een kleine wijziging extra dieren aanvragen en deze includeren in het tweede cohort.
- U noemt dat het implanteren van de samples maar gering ongerief veroorzaakt, maar gezien het feit dat dit onder anesthesie gebeurt, wordt het ongerief standaard ingeschat als matig. Graag aanpassen.

De onderzoeker heeft hierop schriftelijk, via de website van de DEC, gereageerd als volgt.

B3a: U geeft aan geen uitval te verwachten, maar toch rekent u met een N=10 i.p.v. een N=8. De DEC gaat daar niet mee akkoord. De DEC verzoekt u het aantal benodigde dieren te herberekenen op basis van een N=8. Mocht u in het eerste cohort van het onderzoek uitval van dieren hebben, dan kunt d.m.v. een kleine wijziging extra dieren aanvragen en deze includeren in het tweede cohort.

N=10 is veranderd in N=8. Met de nieuwe berekening komen we op een minimaal aantal konijnen van 11 i.p.v. 14. Dit is gewijzigd in de documenten.

U noemt dat het implanteren van de samples maar gering ongerief veroorzaakt, maar gezien het feit dat dit onder anesthesie gebeurt, wordt het ongerief standaard ingeschat als matig. Graag aanpassen.

Dit is gewijzigd naar Matige ongerief in de documenten.

De vragen van de DEC hebben uiteindelijk niet geleid tot verdere verfijning, wel werd duidelijk dat de onderzoeker al goed over mogelijke verfijning had nagedacht en had toegepast in de aanvraag. De vragen hebben wel geleid tot enige vermindering (14 i.p.v. 11) van het aantal dieren. De DEC heeft hierna de vergunninghouder geadviseerd een positief advies af te geven.

Onderzoeksplan	: Modulatie van botvorming door inductie van lokale ontsteking
DEC-nummer	: 2014.III.08.070
Deelvergunningsnr.	: 11548
Advies d.d. 02-10-2014	: Positief advies tot 1 november 2016
Aantal en soort	: WP1: 11 mannelijke New Zealand white konijnen
Geldstroom	: intern
Status	: vervolg

Behandeling:

- ☒ in DEC-vergadering d.d. 24 september 2014
- ☐ na advies proefdierdeskundige
- ☒ ambtelijke afhandeling
- ☐ anders:

Advies en voorwaarde(n):

Op grond van bovenstaande komt de commissie tot het oordeel dat de haar voorgelegde dierexperimenten ethisch toelaatbaar zijn en geeft een positief advies af.

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

Op 2 oktober 2014 heeft de dierexperimentencommissie (DEC) aan de raad van bestuur advies uitgebracht over uw onderzoeksproject *Modulatie van botvorming door inductie van lokale ontsteking*, DEC nummer 2014.III.08.070. 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 het, door de DEC goedgekeurde, meest recente werkprotocol bekend is bij de proefdierlocatie.

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 voorgenomen 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 dierexperimenteel 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 onderzoeksplan met inachtneming 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 verantwoordelijk 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 deskundigen 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 medewerking 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 2014

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 (tot juli 2014), Inhoudsdeskundige, niet gebonden (vanaf augustus 2014)
- Lid Voorzitter, inhoudsdeskundige, niet gebonden

Kamer 2: Hart/Longen, Vaten, Immunologie & Infectie (7 leden, vanaf maart 2014 6 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 (tot maart 2014)***h
- 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.

*** In verband met de herziene Wod en de veranderingen voor de DEC Utrecht als gevolg daarvan, is er voor gekozen deze vacature niet in te vullen. Na invoering van de herziene Wod zal opnieuw naar de samenstelling van de DEC gekeken worden.

2

Lekensamenvattingen

Lekensamenvattingen 2014

Kamer I

Beeldvorming,
Gedrag en Hersenen,
GGO's

Vergadering 8 januari 2014

Titel studie: Effect van toomgrootte op de emotionele reactiviteit en op het spatiële leervermogen en geheugen van biggen

DEC nummer: 2014.I.01.001

Effect van toomgrootte op de emotionele reactiviteit en op het spatiële leervermogen en geheugen van biggen

Achtergrond: In de veehouderij zien we een toename van het aantal biggen dat per toom wordt geboren waardoor er steeds meer biggen worden geboren met een groeiachterstand. Soms heeft dit als resultaat dat de dieren kleiner en lichter zijn als ze worden geboren, maar het kan ook dat bepaalde hersenstructuren minder goed zijn ontwikkeld. Uit recent onderzoek blijkt dat worpgrootte mogelijk een mentale achterstand veroorzaakt bij meerling-geboren lammeren. Bij jonge ratten die worden geboren in relatief grote nesten is gevonden dat zij een verstoorde stresshormoon spiegel hebben en dat dit komt omdat een belangrijke hormoon-regulerende hersenstructuur mogelijk niet goed is ontwikkeld. Een verstoorde stresshormoon spiegel kan het cognitief functioneren beïnvloeden en het leervermogen en geheugen van dieren aantasten. Langdurige stress kan daarnaast ook het emotionele gestel van een dier beïnvloeden en zelfs gedragsstoornissen veroorzaken. Er zijn nog geen studies gedaan naar mogelijke effecten van toomgrootte op de emotionele reactiviteit of het ruimtelijk leren en geheugen van biggen. Met een holeboard taak kan het ruimtelijk leervermogen, het werkgeheugen

en het lange termijn geheugen worden gemeten. Door het gedrag van de biggen tijdens een 'open-field' test te analyseren, is de emotionele staat en het welzijn van varkens vast te stellen.

Doel/hypothese: Biggen die worden geboren in relatief grotere tomen (>12 biggen) zullen naar verwachting minder goed presteren tijdens de holeboard test, meer stress gerelateerde gedragingen vertonen tijdens de open-field test en een verhoogde concentratie stresshormoon in het speeksel hebben na de open-field test dan biggen geboren in relatief kleinere tomen (<8 biggen). Minder goed presteren tijdens de holeboard test betekent hier dat de biggen uit grotere tomen er langer over zullen doen om de locaties met de voedselbeloningen te vinden en vaker fouten zullen maken tijdens het zoeken dan de biggen uit kleinere tomen.

Globale aanpak vraagstelling: Het verzamelen van informatie over de mogelijke effecten van toomgrootte op de emotionaliteit en cognitie van biggen kan alleen door het gedrag van levende biggen in een gecontroleerde omgeving te onderzoeken. Deze informatie is o.a. van belang vanwege de welzijnsimplicaties voor de dieren. De varkens in dit experiment zullen gering ongerief ervaren gedurende de onderzoeksperiode. Er is sprake van verminderd welzijn van de dieren als zij zich niet goed kunnen aanpassen aan hun omgeving omdat dit langdurige stress bij de dieren zal veroorzaken, hetgeen een negatief effect heeft op hun welzijn. Voor dit aanpassingsvermogen is ruimtelijk denken en geheugen noodzakelijk. Een spatiële holeboard taak is een testopstelling waar de dieren op specifieke locaties mogen zoeken naar voedselbeloningen. Door de biggen de taak herhaaldelijk te laten uitvoeren,

kunnen er metingen worden verricht t.a.v. het ruimtelijk leervermogen en het geheugen. Een aangetast emotioneel gestel kan langdurige stress veroorzaken. Dit is te meten tijdens een 'open-field' test die uitgevoerd zal worden. Hierbij zal het exploratiegedrag en de vocalisaties die de big maakt veel vertellen over de emotionele staat van het dier. Na het doorlopen van deze test kan er aan de hand van een speekselmonster worden bepaald of de ervaring een fysieke stress reactie bij de big teweeg heeft gebracht. De holeboard taak en de open-field test zullen worden doorlopen door zowel biggen die zijn geboren in een relatief grote toom (>12 biggen) en biggen geboren in een relatief kleine toom (<8 biggen), zodat we de prestaties van deze twee groepen met elkaar kunnen vergelijken en informatie kunnen vergaren over de mogelijke effecten van toomgrootte op de cognitieve capaciteiten en emotionele reactiviteit van de biggen.

Titel studie: De hippocampus bij focale epilepsie: karakterisatie van structuur en functie in relatie tot cognitieve ontwikkeling

DEC nummer: 2014.I.01.002

De hippocampus bij focale epilepsie: karakterisatie van structuur en functie in relatie tot cognitieve ontwikkeling

Achtergrond: Bij kinderen die geopereerd worden vanwege epilepsie in de hersenschors blijkt dat de hippocampus vaak aangetast is en soms zelfs ontwikkelt tot een nieuwe vorm van epilepsie. Kinderen met deze afwijking in de hippocampus gaan vaak cognitief achteruit. De hippocampus is een hersenstructuur die

een belangrijke rol speelt bij cognitie en geheugen. Het is onbekend waarom de hippocampus aangedaan wordt als de epilepsie zich elders bevindt. Mogelijk komt dit door vaak voorkomende aanvallen vanuit de hersenschors die zich door de hersenen verspreiden en zodoende ook de, op afstand gelegen, hippocampus beschadigen. Als dit, nog onbekende, proces in kaart gebracht kan worden met MRI dan is het in de toekomst mogelijk om kinderen met een hoge risico op hippocampale schade eerder in aanmerking te laten komen voor hersenchirurgie. Dit kan verdere schade aan de cognitieve ontwikkeling dan beperken.

Doel/hypothese: Doel van deze studie: het in kaart brengen van schade aan de hippocampus als gevolg van epilepsie op afstand en het effect van deze schade op hippocampaal functioneren in een focaal epilepsie rattenmodel. We verwachten structurele en functionele schade in de hippocampus als gevolg van epileptische aanvallen die hun origine vinden in de hersenschors en dat deze schade een negatief effect heeft op hippocampaal functioneren.

Globale aanpak vraagstelling: Het opwekken van focale epilepsie in de hersenschors in ratten; het volgen van deze ratten samen met ratten die geen epilepsie hebben door middel van magnetic resonance imaging (MTI) en specifieke taken die de functie van de hippocampus testen; het karakteriseren van functionele en structurele eigenschappen van de hippocampus. De effecten van epileptische aanvallen op andere hersengebieden al dan niet in relatie tot cognitief functioneren zijn niet te onderzoeken met alternatieve technieken voor een diermodel zoals celkweken en computermodellen.

Titel studie: Novel mouse genetics approaches for dissecting dopaminergic pathway development and disease

DEC nummer: 2014.I.01.003

Nieuwe muis genetische benadering voor het onderscheiden van dopaminerge zenuwbanen tijdens ontwikkeling en ziekte

Achtergrond: Dopamine positieve zenuwcellen in de middenhersenen zijn betrokken bij automatische bewegingen, regulatie van emoties en beloning, zij worden in verband gebracht met verschillende psychiatrische ziekten en neuronale degeneratieve ziekte (zoals in schizofrenie en Parkinson). De dopamine positieve zenuwcellen in de middenhersenen, worden grofweg verdeeld in twee anatomisch en functioneel verschillende groepen. Deze groepen heten de substantia nigra (SNc) en ventral tegmental area (VTA). Zij maken zeer precieze connecties met verschillende andere hersengebieden (zoals de cortex in de grote hersenen). De mechanismes die zorgen voor de ontwikkeling van de zenuwbanen van deze twee dopamine positieve zenuwcel groepen en hun rol bij de ontwikkeling van ziektes, zijn van grote interesse. Helaas is er echter nog weinig kennis over deze zenuwbanen door het ontbreken van technieken om deze zenuwbanen grondig te bestuderen en te manipuleren in een diermodel. De ontwikkeling van unieke muislijnen, waarin de zenuwcellen van de dopamine positieve hersengebieden apart van elkaar worden gekleurd (d.m.v. fluorescentie), zal leiden tot een verbreding van de kennis over de ontwikkeling van de zenuwbanen van dopamine positieve zenuwcellen in de middenhersenen.

Doel/hypothese: De hoofddoelstelling van deze onderzoeksgroep is het vergroten van kennis over de ontwikkeling van neuronale netwerken. Dit project heeft als doel het genereren en karakteriseren van verschillende transgene muis lijnen die fluorescente eiwitten tot expressie brengen in verschillende dopamine positieve subgebieden van de middenhersenen. Doordat de cellen in deze subgroepen een fluorescent eiwit tot expressie brengen, kunnen we deze cellen en hun uitlopers visualiseren, waardoor we ze goed kunnen bestuderen. Middels deze transgenen muislijnen kunnen we ontrafelen welke sub gebieden van dopamine positieve zenuwcellen in de middenhersenen verantwoordelijk zijn voor welke connecties.

Globale aanpak vraagstelling: Door het genereren van deze muislijnen kunnen we precies bekijken welke subgebieden van de dopamine positieve zenuwcellen in de middenhersenen, welke connecties maken. Door middel van kleuringen zijn we in staat deze zenuwbanen (connecties) te visualiseren. Vanwege de complexiteit van dit systeem zijn cellijnen ongeschikt.

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

DEC nummer: 2014.I.01.004

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

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

Doel/hypothese: De hoofddoelstelling van deze onderzoeksgroep is het vergroten van kennis over de ontwikkeling van neuronale netwerken. Het doel van dit specifieke project is het ontrafelen van het mechanisme dat de vorming van connecties tussen de habenula en het dopaminerge midbrein stuurt. Globale aanpak vraagstelling: In deze vervolgstudie willen we in de muis verder bestuderen op welke wijze de connecties tussen de habenula en het dopaminerge midbrein ontstaan. Een aantal eiwitten die hier een rol bij spelen hebben we inmiddels achterhaald. Nu willen we in een in vivo model bekijken welke rol deze eiwitten exact spelen bij het tot stand komen van deze connecties (verbindingen middels zenuwbanen). Dit zal gedaan worden door de eiwitten die wij in onze studies gevonden hebben te manipuleren, vervolgens zullen er kleuringen gedaan worden op het hersenweefsel om deze zenuwbanen aan te kleuren. Hiermee kunnen we zien wat het gevolg van de ma-

nipulatie van deze eiwitten is op de ontwikkeling van zenuwbanen (tussen de habenula en het dopaminerge midbrein), waardoor we meer inzicht zullen verkrijgen in de rol van deze eiwitten bij het tot stand komen van connecties tussen de habenula en het dopaminerge midbrein. De eiwitten in het brein zullen gemanipuleerd worden door middel van In Utro electroporatie. Bij deze methode wordt een zwangere moeder muis onder narcose gebracht, de baarmoeder van de zwangere moeder muis wordt blootgelegd en er wordt RNA of DNA in het ventricle van een embryo geïnjecteerd, vervolgens wordt m.b.v. een vijftal elektrische pulsen het DNA/ RNA in de hersencellen getrokken. Hierna zal de baarmoeder (geheel intact) teruggeplaatst worden in de buik van de zwangere moeder. Hierna kunnen de embryo's zich verder ontwikkelen in de baarmoeder. Na vier dagen worden de embryo's geïsoleerd en kan het effect van de manipulatie van de eiwitten op de ontwikkeling van de connecties tussen de habenula en het dopaminerge midbrein bekeken worden middels kleuringen voor deze zenuwbanen. Met behulp van deze techniek kunnen we de rol van deze eiwitten bestuderen op een specifieke locatie en op een bepaalde fase van de embryonale ontwikkeling. Vanwege de complexiteit van dit systeem zijn cellijnen ongeschikt.

Titel studie: Zoeken naar koortconvulsiegevoeligheidsgenen

DEC nummer: 2014.I.01.005

Het identificeren van genen en mechanismen van koortconvulsiegevoeligheid in muizen

Achtergrond: Kinderen tussen 6 maanden en 5 jaar kunnen tijdens koorts stuipjes krijgen (koortsstuipen). Dit kan erg beangstigend zijn voor de ouders. Als kinderen langdurige of herhaaldelijke koortsstuipen hebben meemaakt, neemt de kans op het ontwikkelen van epilepsie toe. Omgevingsfactoren en genetische aanleg bepalen de kans op het ontwikkelen van koortsstuipen. Omdat er weinig bekend is over gevoeligheidsgenen voor koortsstuipen en de invloed van omgevingsfactoren, willen wij hier meer onderzoek naar doen.

Doel/hypothese: Het identificeren van genen en mechanismen die de gevoeligheid voor koortconvulsies bepalen, kan er toe leiden dat mensen die risico lopen vroeg gediagnostiseerd worden en preventief medicatie krijgen. Hierdoor kan de ontwikkeling van epilepsie worden geremd.

Globale aanpak vraagstelling: Bij muizenstammen met een verschillende genetische achtergrond worden koortsstuipen opgewekt door de lichaamstemperatuur langzaam te verhogen, door ze bloot te stellen aan warme lucht. Op deze manier hebben we een paar kandidaatgenen gevonden, die een rol spelen bij het ontwikkelen van koortsstuipen in muizen. De precieze rol van deze kandidaatgenen op het ontwikkelen van koortsstuipen willen we in muizen testen door de aanwezigheid van deze genen te manipuleren en te kijken of deze mui-

zen dan minder gevoelig zijn voor koortsstuipen. Verder willen we het onderliggende mechanisme van koortconvulsies beter in kaart brengen met interferentiestudies (o.a. met kleine stukjes RNA die eiwitaanmaak kunnen remmen (miRNAs)) en door te kijken naar de eigenschappen van hersencellen in verschillende in vitro modellen.

Titel studie: Preclinical studies on the validation of the use of TrkB and Mc4 receptor antibody in the treatment of anorexia nervosa related symptoms

DEC nummer: 2014.I.01.006

Preklinische studies op de validatie van het gebruik van TrkB en Mc4R antilichamen bij de behandeling van anorexia nervosa symptomen

Achtergrond: Eetstoornissen zijn complexe psychiatrische aandoeningen waar patiënten allerlei gedrageigenschappen 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 sterftcijfer van 10-15%. Nieuwe behandelmethoden zijn hard nodig om deze ziekte te bestrijden. Een van de nieuwe potentiële 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 en Mc4R 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: Inductie langdurige anhedonie middels social defeat, gevolgd door normalisatie middels chronische behandeling met antidepressivum

DEC nummer: 2014.I.01.007

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 het “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 induce-

ren 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 wordt in de kooi van een dominante rat geplaatst. We zullen dan het hersengebied dat betrokken is bij agressie stimuleren bij de dominante rat, waardoor de verliezer zal worden aangevallen. In deze verliezers zullen we de gevoeligheid van het beloningssysteem in de hersenen meten, wat een maat is voor anhedonie. Door het verliesmodel op deze manier op te zetten, zullen er minder dieren nodig zijn. Ook verwachten we dat een meer gecontroleerde verlieservaring zorgt voor een gelijkwaardige reproduceerbare stressor in de verschillende dieren.

Titel studie: NMDA receptor en VSCC afhankelijke effecten van Sema7A op neurotransmissie

DEC nummer: 2014.I.01.008

NMDA receptor en VSCC afhankelijke effecten van Sema7A op neurotransmissie

Achtergrond: In voorgaande onderzoeken hebben wij ontdekt dat Sema7A communicatie tussen zenuwen kan veranderen. Sema7A is een eiwit dat al tijdens de ontwikkeling van de hersenen een belangrijke rol speelt. Het was echter niet bekend wat voor een rol dit eiwit speelt in de volwassen hersenen. Nu we weten dat Sema7A effecten heeft op de communicatie tussen zenuwen in de hersenen willen we onderzoeken wat het mechanisme is waarmee Sema7A de communicatie verandert. Met deze kennis vergroten we fundamentele kennis over de her-

senen en dit kan mogelijk bijdragen aan het ontwikkelen van therapieën voor zenuwaandoeningen zoals epilepsie. Tijdens de ontwikkeling van epilepsie maken zenuwen verkeerde verbindingen en wordt de communicatie tussen zenuwen ernstig veranderd. Sema7A zou hier potentieel een rol in kunnen spelen. Zo zijn er aanwijzingen dat Semaphorins, de klasse eiwitten waartoe Sema7A behoort, op verkeerde plekken in de hersenen worden aangemaakt tijdens de ontwikkeling van epilepsie. Voor dit onderzoek willen we bestuderen in welke mate de effecten van Sema7A op communicatie tussen zenuwen afhankelijk is van een groep zoutkanalen en een receptor, de NMDA receptor en VSCC kanalen. Deze kanalen en receptor zijn aanwezig op het membraan van de zenuwcel en zorgen ervoor dat de zenuwcel weet wat er in de omgeving van de zenuwcel gebeurt. Van deze kanalen en receptor is bekend dat zij veranderingen in zenuwcommunicatie teweeg brengen en zijn daarom een potentiële kandidaat om het effect van Sema7A te bewerkstelligen. Doel/hypothese: Het bestuderen van NMDA receptor en VSCCs afhankelijkheid voor effecten van Sema7A toediening. Onze hypothese is dat het blokkeren van NMDA receptor en/of VSCCs het effect van Sema7A blokkeert. Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van Sema7A op zenuw communicatie te onderzoeken maken we gebruik van plakjes uit muizen hersenen. Middels speciale meettechnieken kunnen we de communicatie meten tussen de zenuwen in deze hersenplakjes. Aan deze hersenplakjes voegen we stoffen toe die de NMDA receptor en/of VSCCs blokkeren, de blokkers, en voegen we vervolgens Sema7A toe. Als het effect van Sema7A op zenuw communicatie afhankelijk is van NMDA en/

of VSCCs zullen de toegevoegde blokkers het effect van Sema7A stoppen. Op deze manier kunnen we uitzoeken hoe Sema7A de communicatie tussen zenuwen beïnvloedt. Voor het meten van het effect van Sema7A zijn volgroeide zenuwnetwerken nodig. Deze volgroeide zenuwnetwerken zijn alleen te vinden in hersenen van volwassen muizen. Het verkrijgen van de hersenen uit de muis is een snel proces wat onder verdoving plaatsvindt en tot gering ongerief leidt bij de muizen. Daarnaast draagt dit onderzoek bij aan fundamentele kennis over de hersenen en levert mogelijk een bijdrage aan het ontwikkelen van therapieën voor aandoeningen als epilepsie.

Vergadering 12 februari 2014

Titel studie: Bepaling het effect van voedingsinterventie op verstoorde sociale gedragen, verhoogde repetitieve gedragen en andere immunologische en neurologische veranderingen in BTBR muizenmodel voor autisme

DEC nummer: 2014.I.02.009

Bepaling van het effect van de voedingsinterventie m.b.t. het aminozuur dieet en het neuro-anti-inflammatoire dieet op neurologische, immunologische en gedragsveranderingen in het BTBR muizenmodel

Achtergrond: Autisme is een stoornis die wordt gekarakteriseerd door afwijkend sociaal gedrag, verstoorde communicatie en de aanwezigheid van specifieke en herhaalde stereotype gedragingen. Hoe de ziekte ontstaat is grotendeels onbekend, hoewel veelal wordt beweerd dat autisme een gevolg is van een combinatie tussen genetische aanleg en omgevingsfactoren. mTOR is een threonine/serine kinase dat betrokken is bij veel verschillende cellulaire processen en overactivatie van mTOR signaling pathway is betrokken bij de ontwikkeling van autisme-gerelateerde neurologische ziekten. Uit vorige onderzoeken is gebleken dat mTOR activiteit bij de koemelkallergische muizen verhoogd is in de brein en de darmen. De wei-geïnduceerde koemelkallergische muizen vertonen ook het verlaagde sociale gedrag en

verhoogde poetsgedrag. De behandelingen met rapamycine en de voedingsinterventies hebben de verlaagde sociale interactie en het verhoogde poetsgedrag van de koemelkallergische muizen verbeterd. Recent is ook aangetoond dat rapamycine het verstoorde sociale gedrag van BTBR muizen kan verbeteren (Burket 2013). We veronderstellen dat de voedingsinterventies de neurologische, immunologische en gedragsveranderingen ook bij de BTBR muizen positief kan beïnvloeden.

Doel/hypothese: Bepaling van het effect van voedingsinterventies op neurologische, immunologische en gedragsverandering die mogelijk gerelateerd zijn aan afgenomen sociale interesse en verhoogde poetsgedrag in een gevalideerd muizenmodel voor autisme, namelijk de BTBR muis. We willen hiermee onderzoeken of de voedingsinterventie m.b.t. het aminozuur dieet en het neuro-inflammatoire dieet verstoord sociaal gedrag en het verhoogde poetsgedrag in de BTBR muizen kan verbeteren.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek willen we een bestaand BTBR muizenmodel gebruiken. We willen het effect van de voedingsinterventie in het BTBR muizenmodel onderzoeken. In dit vervolgonderzoek willen we de sociale interesetest, de poetstest doen. Daarnaast willen we in serum, brein, darmen, en milt onderzoeken of er veranderingen zijn in de aanwezigheid van specifieke neuro- en immunologische markers en deze veranderingen kunnen beïnvloedt worden door de behandeling van voedingsinterventie.

Titel studie: Primaire oligodendrocyte celweek als een model voor neonatale witte stof hersenschade

DEC nummer: 2014.I.02.010

Primaire oligodendrocyte celweek als een model voor neonatale witte stof hersenschade

Achtergrond: 10% Van alle baby's wordt te vroeg geboren. Door betere neonatale zorg kunnen baby's vanaf steeds jongere foetale leeftijden in leven gehouden worden. Helaas krijgen de kinderen die vroeggeboortes overleven vaak te kampen met schade aan de witte stof van de hersenen, met als gevolg cognitieve (geheugen/aandacht) en/of motorische (o.a. spasticiteit) beperkingen. Tot op heden is er geen behandeling die dit kan voorkomen of genezen. Belangrijke factoren die een rol spelen bij het ontstaan van witte stof schade zijn een ontsteking bij moeder (vaak een oorzaak van vroeggeboortes) en verlaagd zuurstofgehalte in de hersenen van het kindje (door onderontwikkelde ademhaling en bloedcirculatie). Recent onderzoek wijst uit dat bepaalde voorlopercellen in de witte stof zich niet goed ontwikkelen bij prematuur geboren baby's. We weten echter nog niet hoe dit komt. Wij willen graag deze witte stof voorlopercellen isoleren uit rattenhersenen, om vervolgens te testen welke factoren (o.a. ontstekingsfactoren) een rol spelen bij deze verminderde ontwikkeling van witte stof voorlopercellen. Ook willen we graag onderzoeken welke mechanismen hierbij belangrijk zijn en of negatieve effecten kunnen worden tegengegaan m.b.v. D-JNKi behandeling, een potentieel geneesmiddel waarvan eerder door onze groep is aangetoond dat het hersenschade vermindert na een hypoxie-ischemisch insult.

Doel/hypothese: De doelen van deze studie zijn het onderzoeken van het effect van verschillende soorten stimuli op de ontwikkeling van witte stof voorlopercellen, het identificeren van moleculaire mechanismen die hierbij betrokken zijn en uitzoeken of en hoe D-JNKi behandeling negatieve effecten op celontwikkeling kan tegengaan. We verwachten dat specifieke inflammatoire eiwitten en vrije radicalen de ontwikkeling van witte stof voorlopercellen remmen, dat hierbij verschillende biochemische kettingreacties betrokken zijn en dat D-JNKi ingrijpt op deze kettingreacties.

Globale aanpak vraagstelling: Er worden rattenpups gefokt die op één dag na hun geboorte worden geëuthanaseerd. Vervolgens worden de hersenen verwijderd en volgens een in de literatuur veel gebruikt protocol (Chen et al., 2007) worden hieruit de witte stofcellen geïsoleerd. De cellen worden daarna gekweekt en de cellen zullen worden blootgesteld aan verschillende stimuli. Het effect van deze stimuli op de ontwikkeling van de cel en op intracellulaire pathways worden vastgesteld middels immunofluorescente kleuringen en eiwitbepalingen. Het is noodzakelijk om proefdieren te gebruiken om een goed beeld te krijgen hoe de witte stof voorlopercellen op bepaalde stimuli reageren. Commercieel beschikbare cellijnen zijn te veel bewerkt (geïmmortaliseerd) om zo'n beeld te kunnen geven. Tevens worden in de literatuur waarmee we onze bevindingen willen vergelijken voornamelijk primaire celkweeken gebruikt. Om het ongerief van dieren te minimaliseren wordt een ex vivo systeem gebruikt waarbij uit de hersenen een celweek wordt gemaakt, alvorens er stimuli worden toegediend.

Titel studie: Effects of a neurorestorative diet on a PD mouse model induced with pesticide rotenone

DEC nummer: 2014.I.02.011

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

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

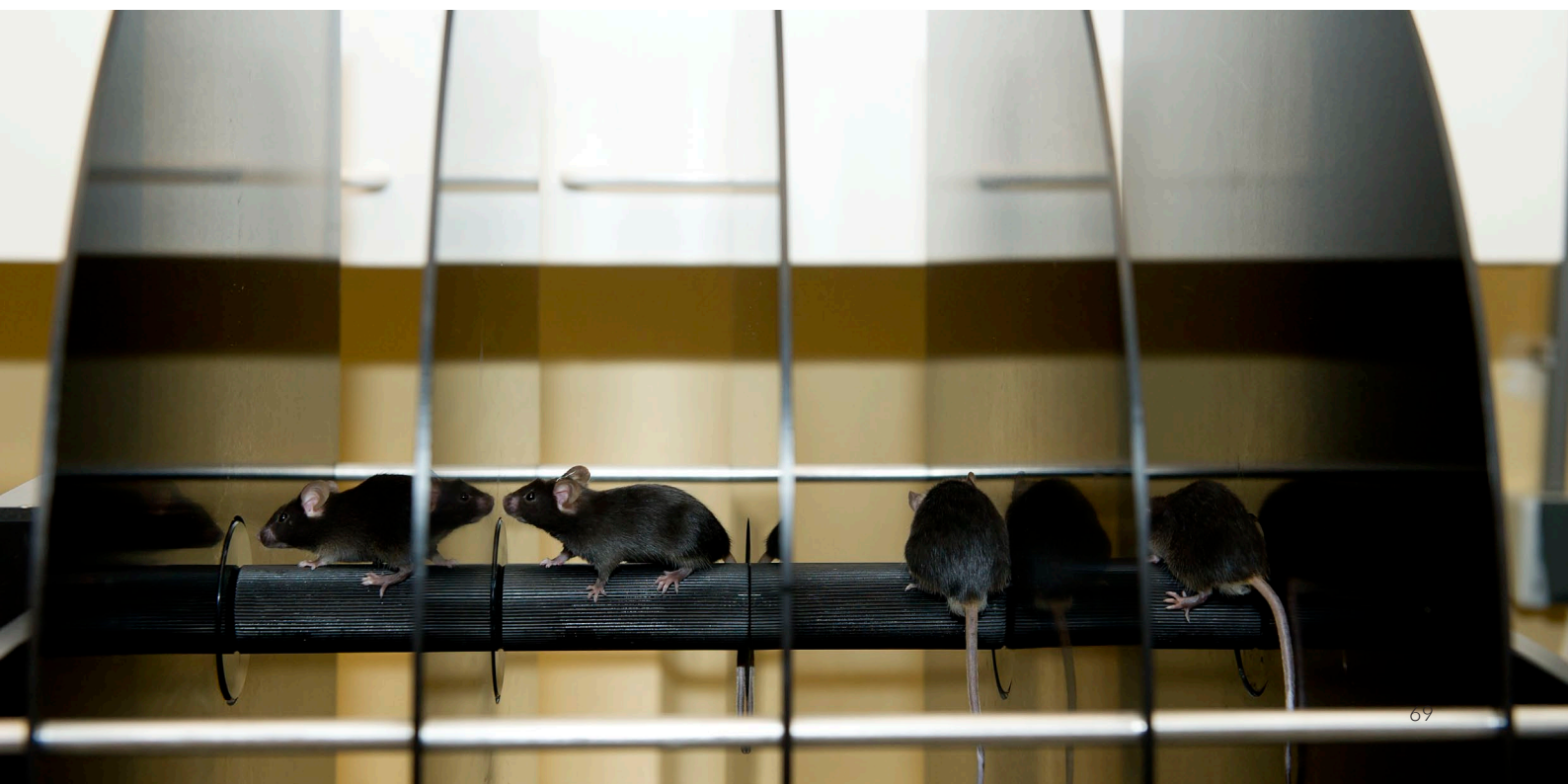
Doel/hypothese: In een eerdere DEC aanvraag hebben we het hier voorgestelde rotenone muismodel opgezet en laten zien dat die zowel de motorisch als de non-motorische symptomen van PD vertoont. Het doel van dit onderzoek is om in dit muismodel twee dieetinterventies te testen. Om te bevestigen dat de progressie van de pathologie via de sympatische- en de parasympatische zenuwen vanuit de hersenen naar de maagdarmkanaal verloopt, zullen wij ons PD-muizenmodel gebruiken. We zullen het autonome zenuwweefsel analyseren om de aanwezigheid van geaggregeerde alfa-synuclein te bevestigen.

Globale aanpak vraagstelling: Het diermodel wordt geïnduceerd door infusie van rotenone in het brein.

Rotenone is een toxische stof (een pesticide) die aangrijpt in een proces dat ook bij de ziekte verstoord is. Bovendien hebben epidemiologische studies een correlatie laten zien tussen blootstelling aan dit pesticide en het risico op het krijgen van PD. We hebben eerder aangetoond dat infusie van rotenone in het brein de symptomen van het bewegingsapparaat kan veroorzaken en ook dat er zgn. non-motorisch symptomen optreden (zoals die in de darmen). In dit onderzoek willen we testen in hoeverre twee dieetinterventies, waarvan we weten dat ze het zenuwstelsel beschermen, verbeteringen geven in de symptomen van Parkinson.

Foto's rechts en volgende pagina:

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





Titel studie: Operant set shifting using the PhenoTyper homepage system and repetitive pattern analysis in mouse models related to autism

DEC nummer: 2014.I.02.012

Het valideren van een nieuwe, verfijnde, methode voor het testen van cognitieve rigiditeit in muizen

Achtergrond: Problemen met het aanpassen van gedrag aan veranderingen, i.e. cognitieve rigiditeit, wordt gezien als een kernprobleem bij verschillende psychiatrische aandoeningen. Preklinische studies bij dieren dienen om te onderzoeken wat precies de neurobiologische oorzaken zijn van de cognitieve rigiditeit bij deze patiënten. Preklinische studies helpen het ziektemechanisme te begrijpen en maken het mogelijk de effectiviteit van nieuwe therapieën te testen.

Doel/hypothese: In deze studie zal een nieuwe methode worden gevalideerd om cognitieve rigiditeit te meten in muizen, in een stress-vrije omgeving en zonder dat hiervoor voedselrestrictie noodzakelijk is. Ook zal worden onderzocht wat de correlatie is van deze uitkomstmaat met andere vormen van cognitieve rigiditeit. Wanneer deze testuitkomst is gevalideerd kunnen deze diermodellen gebruikt worden voor het testen van potentiële behandelings, welke relevant zouden kunnen zijn voor de mens. Globale aanpak vraagstelling: De dieren worden gedurende 5 dagen gehuisvest in een speciale testomgeving, waar zij de gelegenheid krijgen om een leertaak uit te voeren waarbij zij voedselbeloningen kunnen verdienen. Uit de prestatie van de dieren op deze taak kan worden opge maakt welke mate van cognitieve rigiditeit zij vertonen. In

deze studie zullen twee inteeltstammen met elkaar worden vergeleken, waarvan bekend is dat deze verschillen in cognitieve rigiditeit. Daarnaast zal voor twee genen die geassocieerd zijn met autisme in de mens worden bekeken wat het effect van afwezigheid is op deze gedragstaak.

Titel studie: Obesity associated brain inflammation and illness susceptibility

DEC nummer: 2014.I.02.013

Ontsteking van de hersenen en gevoeligheid voor infecties geassocieerd met obesitas

Achtergrond: Obesitas is een enorm gezondheidsprobleem en gaat gepaard met Diabetes Mellitus type 2 (DM type 2) en een verhoogde gevoeligheid voor infecties. Het huidige voedingspatroon in de Westerse wereld (veel verzadigde vetten en suiker) is een van de voornaamste oorzaken voor obesitas. Onlangs is aangetoond dat voeding via effecten op de hersenen zou kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van obesitas en geassocieerde ziektes en eventueel ook aan de verhoogde gevoeligheid voor infecties. Een dieet van veel vet en suiker zou een ontstekingsreactie in het brein tot gevolg hebben die deze problemen veroorzaakt. Een van de onderliggende mechanismen zou kunnen zijn dat voeding via deze ontsteking een verstoring veroorzaakt in de gevoeligheid van de hersenen voor leptine, wat een signaalmolecuul is dat door vetweefsel wordt uitgescheiden en waarop de hersenen normaal reageren met het verminderen van voedselinname en het verhogen van energieverbruik. In de afgelopen jaren hebben we in ons lab een model ontwikkeld voor dieet geïnduceerde obesitas. Wistar rat-

Net als mensen houden ook ratten van chocolade en in het algemeen van suiker- en vetrijk voedsel. Overmatig gebruik leidt ook in ratten tot overgewicht en maakt ratten minder glucose tolerant. Ratten werken graag om een smartie te krijgen. Deze gelijkenissen in eetgedrag maken het relevant in ratten mechanismen onderliggend aan eetgedrag te ontrafelen. Resultaten verkregen bij ratten en muizen vertalen goed naar de mens.



ten werden hierbij blootgesteld aan een dieet van vetrijk voedsel en een suikeroplossing naast het gewone voer en water. Dieren op dit dieet worden zwaarlijvig, vertonen calorie-overconsumptie en hun hersenen worden minder gevoelig voor leptine.

Doel/hypothese: Onze hypothese is dat dieren die zijn blootgesteld aan een vet-suikerrijk dieet een milde ontstekingsreactie in de hersenen vertonen die ervoor zorgt dat hun hersenen minder gevoelig zijn voor leptine. Deze

ontsteking zou een bepalende factor kunnen zijn bij het ontwikkelen van diabetes en een veranderde respons op infectie. Daarom is ons doel om meer over de mechanismen te weten te komen van deze ontstekingsrespons en om te bepalen of vermindering van deze respons met farmacologische stoffen de problemen die geassocieerd zijn met obesitas (diabetes, veranderde respons op infectie) vermindert.



Globale aanpak vraagstelling: In de eerste experimenten willen we ratten die op een vet-suikerrijk dieet zitten behandelen met een farmacologische remmer van een belangrijke regulator van de ontstekingsreactie, namelijk de remmer van NF-kb (IKKbeta). We willen IKKbeta remmen omdat is aangetoond dat de activiteit hiervan wordt verhoogd door een vet-suikerrijk dieet en het een centrale regulator is van de ontstekingsreactie. In een tweede experiment willen we meetelektrodes implante-

ren in de hersenen om neuronale activiteit te meten voor en gedurende blootstelling aan een vetsuikerrijk dieet. We zullen ook kijken naar neurale activiteit in reactie op leptine, bepaalde voedingsstoffen en LPS (een stof om de gevoeligheid voor infectie te meten). Dit experiment kan alleen in dieren uitgevoerd worden, omdat we kijken naar het gedrag en naar neurale activiteit in de hersenen. Gedurende de experimenten wordt het welzijn van de dieren nauwlettend in de gaten gehouden.

Titel studie: Functional analysis of CNTN4, an Autism target gene

DEC nummer: 2014.I.02.014

Functionele analyse van Cntn4 in het muizenbrein, een gen geassocieerd met autisme

Achtergrond: Preklinische studies bij dieren dienen om te onderzoeken wat de neurobiologische oorzaken zijn van gedragsafwijkingen bij patiënten die lijden aan autisme en anorexia nervosa. Het Cntn4 gen is in recente humane studies geassocieerd met autisme. Functionele studies in de hippocampus en prefrontale cortex van muizenbreinen en de koppeling hiervan aan gedrag zal een beter inzicht geven in het ziekteproces.

Doel/hypothese: In deze studie zal de functie van Cntn4, een gen dat geassocieerd is met autisme en anorexia nervosa, worden opgehelderd. Op basis van recent onderzoek binnen ons lab is de hypothese dat muizen met deletie van Cntn4 abnormale ontwikkeling van hippocampus en prefrontale cortex veroorzaken, wat zich op gedragsniveau uit in geheugenproblemen en cognitieve inflexibiliteit. Het ontrafelen van het ziekteproces kan bijdragen aan ontwikkeling van behandeling, welke momenteel ontbreekt.

Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken wat de effecten van het Cntn4-gen zijn op hersenprocessen en gedrag, wordt dit gen uitgeschakeld in muizen. Gekeken wordt naar hersenactiviteit en neuronale structuur in de hippocampus, en de effecten

op verschillende maten van geheugen. Het gebruik van proefdieren is onvermijdelijk bij het leren begrijpen van gedragsstoornissen in een genetisch gecontroleerde omgeving.

Titel studie: Het verschil in mTOR-signaling activatie in jonge en volwassen C57BL/6 muizen

DEC nummer: 2014.I.02.015

Het verschil in mTOR-signaling activatie in jonge en volwassen C57BL/6 muizen

Achtergrond: mTOR is een threonine/serine kinase dat betrokken is bij veel verschillende cellulaire processen als celgroei en celontwikkeling. Overactivatie van mTOR signaling pathway is betrokken bij de ontwikkeling van autisme-gerelateerde neurologische ziekten. Aangezien nog nooit is gekeken naar de mTOR pathway in relatie tot leeftijd, willen wij kijken of er een verschil zit in activatie tussen jonge en oude muizen.

Doel/hypothese: Het bepalen van het verschil in activatie van de mTOR-signaleringsroute in jonge (4 weken oud) en volwassen (3 maanden oud) muizen.

Globale aanpak vraagstelling: We willen onderzoeken of er verschil zit in mTOR activatie in jonge en volwassen muizen. Hiervoor gebruiken we twee groepen C57BL/6 muizen van 4 weken en 3 maanden oud. We gebruiken het brein van de muizen en testen hier de activatie van de mTOR pathway op.

Titel studie: Investigation into the role of metabolism related hormones and energy balance on the association between cues and rewards, and expression of reward related feeding behaviour

DEC nummer: 2014.I.02.016

Onderzoek bij muizen naar de functie van hormonen en hersengebieden die betrokken zijn bij beloning van eet gedrag

Achtergrond: De hersenen bestaan uit verschillende gebieden die betrokken zijn bij het vormen van gedrag. Belangrijk bij eetgedrag is dat het onder controle staat van meerdere signalen (hormonen) die bijvoorbeeld uit de maag of darm naar de hersenen gaan en het gedrag beïnvloeden. Om deze veranderingen door hormonen op het gedrag te bestuderen doen wij deze experimenten. Doel/hypothese: Met dit onderzoek vergroten wij het inzicht van de manier waarop energie-metabolisme eetgedrag beïnvloed. Onze hypothese is dat bij een aantal van deze hormonen dieren minder zullen anticiperen en eten, en bij een aantal de dieren meer zullen anticiperen en eten.

Globale aanpak vraagstelling: Dieren worden getraind op een taak waarbij ze beloningen kunnen verdienen. Vervolgens kunnen zij enerzijds een hormoon als voorbehandeling krijgen, en anderzijds een bepaalde hoeveelheid voedsel als voorbehandeling. Hierna wordt er gekeken naar hoe het eetgedrag en anticipatiegedrag veranderd door deze behandelingen. Dit kan uitsluitend in proefdieren omdat er direct naar het gedrag gekeken zal worden.

Titel studie: Bepaling van het effect van modulatie van het intestinale microbiom op sociaal en stereotypisch gedrag en immunologisch en neurologische veranderingen in Balb/c muizen

DEC nummer: 2014.I.02.017

Bepaling van het effect van het veranderen de samenstelling van de darmflora op sociaal en stereotypisch gedrag en immunologische en neurologische veranderingen in Balb/c muizen

Achtergrond: Autisme is een complexe ontwikkelingsstoornis die gekarakteriseerd wordt door afwijkend sociaal gedrag, verstoorde communicatie en de aanwezigheid van specifieke en herhaalde stereotype gedragingen. Hoe de ziekte ontstaat is grotendeels onbekend, hoewel veelal wordt beweerd dat autisme een gevolg is van een combinatie van aangeboren aanleg en omgevingsfactoren. Recent zijn er steeds meer aanwijzingen dat de darmflora via de zogenaamde darm-afweersysteem-brein-as, ook een rol speelt in de ontwikkeling van autistisch gedrag. Hierbij spelen zowel neuronale - als immunologische signalen, geïnitieerd door de darmflora, een belangrijke rol. Om deze reden willen wij specifiek kijken naar de invloed van de samenstelling van de darmflora op sociaal en stereotypisch gedrag. Vanuit de literatuur is bekend dat bepaalde niet verteerbare suikers invloed hebben op de samenstelling van de darmflora. Voor dit experiment willen wij Balb/c muizen gebruiken, omdat deze verminderd sociaal gedrag vertonen en zij een aantal andere kenmerken hebben welke in verband worden gebracht met autisme. Deze karakteristieken zijn

ook bij patiënten met autisme terug te zien. Indien er een positief effect wordt gezien op sociaal gedrag specifieke en herhaalde stereotype gedragingen welke gerelateerd kan worden aan de samenstelling van de darmflora, dan vormt dit onderzoek een stap in de richting naar een nieuwe behandeling van autisme.

Doel/hypothese: Met behulp van een dieet met bepaalde niet verteerbare suikers kunnen we de samenstelling van de darmflora veranderen. In deze studie onderzoeken wij het effect van de samenstelling van de darmflora op neurologische, immunologische en gedragsveranderingen in het Balb/c muizen. Het uiteindelijke doel is het vinden van een nieuwe behandeling van autisme.

Globale aanpak vraagstelling: Balb/c muizen worden op verschillende diëten gezet, namelijk het standaard dieet en een dieet verrijkt met niet verteerbare suikers. Hierdoor is het mogelijk om naar de effecten van de darmflora op gedrag te kijken. Vervolgens worden de muizen onderworpen aan de sociale interesse test, een test om angstgedrag te meten en een test om herhaal en stereotypisch gedrag te meten. Daarna willen we in brein, darmen, en milt onderzoeken of er veranderingen zijn in het brein en het afweersysteem en of deze veranderingen samenhangen met de samenstelling van de darmflora.

Vergadering 12 maart 2014

Titel studie: Stress geïnduceerde c-fos expressie in ratten onder verrijkte huisvesting

DEC nummer: 2014.I.03.018

In kaart brengen van de hersengebieden die betrokken zijn bij de vermindering van angst door kooiverrijking

Achtergrond: In voorafgaand onderzoek hebben we ontdekt dat kooiverrijking een sterke angstremmer is. Wanneer dieren een 'traumatische' ervaring hebben meegemaakt kunnen ze als gevolg hiervan angstiger reageren op milde stress prikkels. Dit kan d.m.v. kooiverrijking weer hersteld worden.

Hoe dit gebeurt weten we echter niet. Ons onderzoek richt zich dan ook op de vraag: welke veranderingen in de hersenen zorgen voor de angst remmende werking van kooiverrijking. Wanneer we weten hoe dit gebeurt kunnen we die kennis gebruiken om nieuwe aangrijpingspunten te vinden voor therapie bij mensen.

Doel/hypothese: Het in kaart brengen van hersengebieden bij de rat die een rol spelen in de verminderde stressgevoeligheid van dieren die in verrijkte huisvesting leven. In deze hersengebieden gaan we dan vervolgens onderzoeken welke genen betrokken zijn bij het reduceren van angst. We denken dat de angst remmende mechanismen in de hersenen die door kooiverrijking teweeggebracht worden ons zullen leiden naar nieuwe aangrijpingspunten voor therapie voor angststoornissen bij de mens.

Globale aanpak vraagstelling: Ratten worden drie weken lang gehuisvest onder twee verschillende omstandigheden: 1) een hele 'arme' kooi die geen speel of schuilgelegenheid biedt, of 2) en verrijkte kooi met diverse speel en schuilgelegenheden en een loopwiel. Hierna stellen we de raten bloot aan een stressor (in dit geval een voetschok of een injectie met LPS). Vervolgens wordt in de hersenen gekeken welke hersengebieden geactiveerd worden door de stressor. We hopen zo te zien welke gebieden een veranderde reactie geven als gevolg van de kooiverrijking. Er worden twee verschillende stressoren gebruikt: een voetschok en een injectie met LPS. LPS is een fragment van een bacterie celwand dat een ontstekingsreactie (ook een stressor), maar geen infectie veroorzaakt. We willen op deze manier zien of verschillende stressoren verschillend door kooiverrijking beïnvloed worden. Uiteindelijk zullen we een aantal hersengebieden selecteren die door kooiverrijking worden beïnvloed. Op die hersengebieden zal het onderzoek gericht worden om te onderzoeken hoe de genexpressie daar veranderd is. De veranderde genen in deze geselecteerde gebieden zullen zeer waarschijnlijk een rol spelen in de verminderde stress gevoeligheid die door kooiverrijking wordt veroorzaakt.

Titel studie: Radioactief gelabeld foliumzuur met eiwit bindende eigenschap voor het visualiseren van de macrofaag activiteit bij artrose met behulp van folaat-SPECT/CT

DEC nummer: 2014.I.03.019

Een eerste studie naar gebruik van een nieuwe stof die mogelijk beter zichtbaar is op de beeldvorming om mechanismen van artrose te bestuderen

Achtergrond: Er zijn steeds meer aanwijzingen dat ontsteking een belangrijke rol speelt bij het ontstaan en in stand houden van artrose. Door foliumzuur radioactief te labelen kunnen we specifiek actieve witte bloedcellen (macrofagen) in real-time in-vivo monitoren met behulp van een scan (SPECT/CT) die een radioactief signaal op kan vangen en kan bepalen waar deze radioactiviteit precies zit in het lichaam. Het probleem van het huidige radioactief gelabelde foliumzuur is dat het signaal bij artrose erg laag is vergeleken met tumoren en reumatoïde artritis waar deze tracer ook voor gebruikt wordt. Een nieuw radioactief gelabelde foliumzuur tracer met een eiwit bindende eigenschap is ontwikkeld en zou een beter signaal moeten geven in een artrose diermodel, en daarnaast zorgen voor minder opname van het radioactieve foliumzuur in de nieren.

Doel/hypothese: Bekijken of het nieuwe radioactieve foliumzuur de actieve macrofagen zichtbaar kunnen maken met het scaninstrument in verschillende artrose modellen en of dit beter zichtbaar is in vergelijking met het nu gebruikte radioactieve foliumzuur.

Globale aanpak vraagstelling: In eerste instantie willen we kijken of we de actieve macrofagen met behulp van

SPECT/CT beter zichtbaar kunnen maken in artrose. Om dit te kunnen onderzoeken wordt er artrose opgewekt in gezonde ratten door een naaldenprik in het gewricht onder algehele verdoving. 1, 2 en 4 weken na de injectie worden de ratten geïnjecteerd in de staartvene met een radioactieve tracer voor het in beeld brengen van geactiveerde macrofagen, eveneens onder verdoving. 24 Uur later worden de dieren wederom onder verdoving gebracht om de SPECT/CT-scan uit te voeren. Mocht de nieuwe tracer actieve macrofagen zichtbaar maken in een artrose model, dan willen we dit ook bestuderen in een ander artrose model welke minder activiteit laat zien en waarbij de nieuwe tracer de actieve macrofagen mogelijk beter in beeld kan brengen dan de oude tracer. Deze in vivo dierproeven zijn noodzakelijk omdat laboratorium-onderzoeken geen volledig beeld van de situatie in een gewricht kunnen geven en onderzoek in artrose patiënten zelf is vooralsnog te belastend.

Titel studie: Transportprocessen en synaptische plasticiteit

DEC nummer: 2014.I.03.020

Eiwittransport binnen zenuwcellen en de flexibiliteit van het brein

Achtergrond: Onze hersenen bestaan uit miljarden zenuwcellen, die elk een uitzonderlijke morfologie en functie hebben. Zo ontvangen zenuwcellen signalen via contactpunten (synapsen) op zogenaamde dendriten en wordt dit signaal, na verwerking in het cellichaam, doorgestuurd naar één andere uitloper, het axon, die het signaal weer doorgeeft aan de volgende neuronen.

Functionele eiwitten moeten snel lange afstanden kunnen overbruggen naar hun specifieke locatie om effectief signalen over te dragen aan andere zenuwcellen. Zo wordt het goed werken van het brein gewaarborgd. Hiervoor is gespecialiseerd transport in de zenuwcellen essentieel en dit kost veel energie. Bij verstoring van dit transportproces kunnen verschillende klinische kenmerken ontstaan zoals geestelijke achterstand, (eiwitten komen niet -op tijd- naar de contactpunten tussen de zenuwcellen) maar ook neurodegeneratieve aandoeningen als Alzheimer, Huntington en Multiple Sclerose als gevolg van eiwitstapelingen in de zenuwcellen. Daarnaast zijn onze hersenen zeer 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 van de zenuwcellen. Bij herhaaldelijk activeren van de synapsen treedt versterking op. Dit gaat gepaard met structurele en functionele veranderingen en wordt synaptische plasticiteit genoemd. Belangrijk bij deze plasticiteit is dat er verschillende types neuronen zijn: ongeveer 80% kan activerende signalen doorgeven, terwijl de overige 20% juist remmende signalen doorgeeft. Verstoring van de balans tussen deze twee kan leiden tot neurologische aandoeningen als epilepsie, autisme en schizofrenie.

Doel/hypothese: Met ons uitgebreide onderzoek proberen wij bepaalde moleculaire processen van de zenuwcellen beter te begrijpen. Zo willen wij duidelijkheid krijgen over: de functie van de verschillende motoreiwitten en hun helper eiwitten op transport in zenuwcellen; de oorzaak van en het effect op eiwitopstapeling en het effect daarvan op de zenuwcelmorfologie en functioneren;

het belang van het begin van het axon in selectie van transport naar dendriten en axonen; de rol van motoreiwit Kif1b in Multiple Sclerose; de interactie van transport eiwitten en de vorming van de contactpunten tussen zenuwcellen; de balans tussen remmende en activerende signalen die zenuwcellen krijgen.

Globale aanpak vraagstelling: Alle experiment op de proefdieren zijn hetzelfde: alle manipulaties worden gedaan na euthanasie van de proefdieren. Hierna worden de zenuwcellen of hersenplakjes op kweek gezet en eventuele andere weefsels geïsoleerd voor aanvullende biochemische experimenten. Daarnaast zal het effect van het uitschakelen van een eiwit (in zogenaamde knock-out muizen) in detail bestudeerd worden door middel van immunohistochemie en anatomische analyse. Tevens zullen hier neuronenkweken van opgezet worden. We doen vervolgens al onze experimenten in de gekweekte cultuur en hersenplakjes 1-4 weken na de euthanasie (langer leven de cellen niet). In de gekweekte zenuwcellen of hersenplakjes zullen verschillende DNA constructen gebracht worden, waardoor de zenuwcellen 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. Daarnaast zullen eventueel farmacologische stoffen toegediend worden of elektrische stimuli gegeven worden, om het effect daarvan te bestuderen. 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: Setup and evaluation of the photothrombotic ischemia model

DEC nummer: 2014.I.03.021

Opzetten en evalueren van photothrombotisch herseninfarct model

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, mogelijk 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. In deze studie gaan we een specifiek proefdiermodel voor een herseninfarct testen. Indien we dit model succesvol kunnen uitvoeren zullen we dit model gaan gebruiken om uitgebreide studies naar herstel van beroerte uit te voeren.

Doel/hypothese: Het doel van deze studies is om een reproduceerbaar herseninfarct-model tot stand te brengen, wat minder uitval van dieren en minder ongerief veroorzaakt dan het veelgebruikte draadjes model. De hypothese is dat dit kan door gebruik te maken van het zogenaamde photothrombotisch herseninfarct model.

Globale aanpak vraagstelling: We zullen met behulp van toediening van een lichtgevoelige kleurstof en blootstelling aan licht met een hoge intensiteit een herseninfarct induceren in ratten hersenen. Veranderingen in de functie en structuur van de hersenen zullen we met MRI technieken meten in ratten die herstellen van een beroerte. Hiervoor zullen we één scan maken voorafgaand aan de beroerte, en een aantal extra scans (maximaal vijf) na inductie van beroerte. Tevens zullen we met behulp van gedragstesten, waarbij we specifiek kijken naar de grijpbeweging van de rat naar een suiker tabletje, bestuderen in welke mate de hersenfunctie na beroerte hersteld is. Voor deze gedragstesten worden de dieren voorafgaand aan beroerte getraind. Na beroerte worden ze gevolgd op dezelfde tijdstippen als de MRI scans. Dit type onderzoek kan alleen uit worden gevoerd in levende dieren.

Titel studie: Investigation of neural circuits connections in and around the hypothalamus that underly feeding and energy homeostasis

DEC nummer: 2014.I.03.022

Onderzoek naar connecties in de hersenen die betrokken zijn bij eetgedrag

Achtergrond: Obesitas en anorexia nervosa zijn groeiende problemen in de huidige samenleving. Om een beter begrip te krijgen van de verschillende hersengebieden die een rol spelen bij eetgedrag en verstoringen van eetgedrag doen wij onderzoek naar de hersenen. Hierbij zijn wij geïnteresseerd in specifieke connecties tussen hersengebieden waarvan bekend is dat ze betrokken zijn bij eetgedrag, om er achter te komen hoe deze verbindingen

eetgedrag sturen. Om dit te doen moeten wij gebruik maken van proefdieren, die soortgelijke hersenconstructies en connecties hebben in de hersendelen betrokken bij eetgedrag en energiebalans.

Doel/hypothese: Het doel van deze experimenten is om inzichtelijk te maken hoe verschillende hersencellen in het brein met elkaar verbonden zijn, en hoe die verbindingen een bijdrage kunnen leveren aan eetgedrag.

Globale aanpak vraagstelling: Proefdieren (rat/muis) zullen een operatie ondergaan om specifieke hersencellen herkenbaar te maken. Vervolgens zullen we de dieren euthanaseren, het brein isoleren en de activiteit van deze hersencellen meten en kijken hoe ze met elkaar in contact staan.

Titel studie: Electrophysiological investigation of the useage of pharmacogenetic and optogenetic approaches to modulate dopamine neurons in the midbrain

DEC nummer: 2014.I.03.023

Onderzoek naar de elektrische eigenschappen van dopamine hersencellen in het brein

Achtergrond: De hersenen bestaan uit verschillende gebieden die betrokken zijn bij het vormen van gedrag. De communicatie tussen deze gebieden is cruciaal voor gedrag. Wij doen deze experimenten om een beter idee te krijgen van het werken van een van de hersengebieden die erg belangrijk is voor gedrag. Het gaat hier om de hersencellen van een deel van het midbrein die als neurotransmitter dopamine aanmaken.

Doel/hypothese: Het doel van deze experimenten is om

ons begrip te verbeteren van het – voor wetenschappelijke doeleinden – beïnvloeden van de activiteit van de hersencellen in het midbrein.

Globale aanpak vraagstelling: Dieren (muizen/ratten) zullen geopereerd worden waarbij er een verzwakt virus in het midbrein geplaatst wordt. Dit virus maakt de hersencellen in het midbrein gevoelig voor licht of gevoelig voor een speciale stof. Vervolgens zullen wij in dit weefsel onderzoeken hoe de hersencellen lichtgevoelig zijn en gevoelig zijn voor deze speciale stof. Hiermee kunnen wij dan vervolgens ook deze hersencellen beïnvloeden die betrokken zijn bij het gedrag van dieren, om er achter te komen hoe de hersencellen een rol spelen in eetgedrag.

Titel studie: De rol van semaphorin 4F in de ontwikkeling van de hersenen van de muis

DEC nummer: 2014.I.03.024

De rol van sema4F op de ontwikkeling van de muis hersenen

Achtergrond: Tijdens de ontwikkeling van de hersenen zijn er vele eiwitten die een rol spelen. Bij de vorming van connecties tussen hersencellen (neuronen) zijn de uitlopers (axonen) van deze cellen zeer belangrijk. Tijdens de ontwikkeling worden deze axonen “gestuurd” door de aanwezigheid van bepaalde eiwitten. Een groep van deze eiwitten heeft als familienaam semaphorine, en specifiek daarvan zijn wij geïnteresseerd in semaphorin 4F (sema4F). Over dit eiwit is vrijwel nog niets bekend en informatie hierover zou daarom veel bijdragen aan het neuroscience veld.

Doel/hypothese: Wij verwachten dat sema4F aanwezig

is in de hersenen en dat sema4F veranderingen te weeg brengt die zowel aantrekkend als afstotend zouden kunnen zijn. Daarnaast zijn wij ook geïnteresseerd in binding partners van dit eiwit en gaan wij deze onderzoeken, met voornamelijk de focus op plexin B (een eiwit familie die vaker bind met de semaphorine familie).

Globale aanpak vraagstelling: Als eerste gaan wij bekijken waar in de hersenen sema4F tot uiting komt. Daarna willen wij bekijken wat voor effect het eiwit heeft op het migratie gedrag van de uitlopers van de neuronen in deze hersengebieden. Ook gaan wij opzoek naar bindingpartners voor het eiwit wat ons meer informatie verschaft over hoe het eiwit zorgt voor verandering in de hersenen. Het is noodzakelijk voor dit onderzoek muizen te gebruiken aangezien wij deze informatie halen uit de hersenen. We zullen de dieren doden en daarna proeven doen op de hersenen. Omdat wij intacte hersenen nodig hebben waarin de neuronen kunnen/konden communiceren met elkaar is het noodzakelijk om dit onderzoek in dieren te doen, het is ethische niet verantwoord op dit in mensen te doen en met alleen celkweek of computermodellen kunnen we niet dezelfde omgeving creëren.

Titel studie: The effects of early life adverse events on brain structure and function

DEC nummer: 2014.I.03.025

Het effect van stress in 't vroege leven op structuur en functie van de hippocampus in vrouwelijke ratten

Achtergrond: Het vroege perinatale leven is een kritische periode voor een individu. Niet alleen de kwaliteit van de embryonische omgeving maar ook de ervaringen van de

zuigeling zijn hierbij van kritieke invloed, in het bijzonder de ouder-kind relatie heeft invloed op de emotionele en cognitieve ontwikkeling later in het leven. Er is reeds aangetoond dat de perinatale omgeving en postnatale ervaringen kwetsbaarheid voor psychopathologie en cognitieve functie in de volwassen leeftijd kunnen voorspellen. Chronische prenatale- of jeugdstress (Bijv. drugs- of alcohol verslaafde moeder, extreme armoede, verlies van een ouder, sociale deprivatie of misbruik) correleren met verhoogde incidentie van psychiatrische stoornissen, verstoorde cognitieve en geheugenfunctie en structurele veranderingen in de hippocampus (een belangrijke hersenregio voor het geheugen). Epidemiologische studies suggereren dat depressie meer voorkomt in vrouwen dan in mannen. Echter, het exacte neurobiologische mechanisme dat ten grondslag ligt aan deze selectieve kwetsbaarheid is voorsnog onbekend. Om het effect van stress in het vroege leven te bestuderen, zullen vrouwelijke ratten hun moeder worden ontnomen. Maternale deprivatie verhoogt de corticosterone in het lichaam. Een hoog niveau van corticosterone in de eerste twee postnatale weken kan nadelige effecten hebben op de hersenstructuur en functie met in het bijzonder een subregio van de hippocampus dat de dentate gyrus wordt genoemd. Van dit gebied, en in het bijzonder de dorsale regio van de dentate gyrus, is bekend dat het betrokken is bij het spatueel geheugen als een noodzakelijk component. Doel/hypothese: De hypothesen die wij hierbij stellen zijn als volgt: 1) Test maternale deprivatie de geheugenfunctie aan in de vrouwelijke rat? 2) Is er sprake van schade aan de dentate gyrus van de hippocampus als gevolg van maternale deprivatie? 3) Is er een correlatie tussen

het slecht doen op hippocampus-gerelateerde taken en schade aan de dentate gyrus? 4) Kan de behandeling met een glucocorticoïd receptor antagonist (die zorgt voor een vermindering in het effect van corticosterone) de rat redden van de nadelige effecten die veroorzaakt zijn door maternale deprivatie?

Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen drie dagen na de geboorte voor 24 uur van de moeder worden gescheiden. Op adolescentie leeftijd worden zij behandeld met een placebo of met een lokale glucocorticoïd receptor antagonist (een receptor die normaliter verantwoordelijk is voor de stress-response, die in dit geval wordt geblokkeerd. 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. De nieuwe inzichten kunnen op termijn mogelijk therapeutische toepassingen hebben. Gezien het maatschappelijke en wetenschappelijke belang van deze experimenten en het relatief geringe ongerief van de dieren vinden we de experimenten ethisch aanvaardbaar. Ik zou graag willen zien of de negatieve vroege levenservaring in vrouwelijke ratten verminderde geheugen functionering geeft en of dit hersteld kan worden door de anti-glucocorticoïd.

Vergadering 9 april 2014

Titel studie: Practicum Psychofarmacologisch dieronderzoek

DEC nummer: 2014.I.04.026

Practicum gedragsfarmacologie in de rat

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: 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 en 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 gaan hier 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. Ook leren de studenten de mate van ongerief inschatten tijdens een experiment.

Opzet van het onderwijsselement: Er zullen verschillende farmaca (benodiazepine, imipramine, amfetamine) worden toegediend (door een ervaren en bevoegde zoölogisch analist) aan ratten. Vervolgens zullen studenten een aantal tests met de dieren uitvoeren: observatie in een kooi, handling van de dieren, op een schuine helling zetten, in een openveld zetten, rotarot 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 in gedragstesten. 4. Wat een gedragstest betekend voor een rat. 5. Het inschatten van ongerief voor een dier tijdens een gedragstest. Aan het eind van het practicum zullen de studenten een verslag schrijven van de experimenten waarbij ze de verkregen data moeten interpreteren en bediscussieren 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.

Titel studie: Oefenen injectie en perfusie fixatie

DEC nummer: 2014.I.04.027

Aanleren van perfuseren fixatie en orale toediening van medicatie

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het gaat hier om het beheersen van een aantal dierexperimentele

handelingen, orale toediening van stoffen en het fixeren met een fixatief van de rat via de hart. Dit fixeren gebeurt om vervolgens het brein met verschillende technieken nader te kunnen bestuderen. Dit zijn allemaal handelingen die oefening nodig hebben om deze goed te kunnen uitvoeren. Bij dit onderdeel wordt gebruikt gemaakt van surplus dieren om onnodig gebruik van nieuwe ratten te voorkomen.

Opzet van het onderwijsselement: De rat krijgt eerst een orale toediening, deze handeling wordt maximaal

3 keer uitgevoerd per rat. Vervolgens worden de ratten geïnjecteerd met pentobarbital (een anestheticum). Zodra de rat volledig onder anesthesie is gaat via het hart een fixatie vloeistof de bloedstroom in zodat het brein gefixeerd wordt. Vervolgens wordt het brein uit de rat gehaald. Al deze dierexperimentele handelingen hebben als doel om er voor te zorgen dat de stagiair de handelingen voldoende beheerst om deze kunnen toe te passen in het experiment.

Titel studie: De rol van sociaal spel bij de ontwikkeling van cognitieve flexibiliteit en prefrontale functie

DEC nummer: 2014.I.04.028

De rol van sociaal spel bij de ontwikkeling van cognitieve flexibiliteit

Achtergrond: Spelen met leeftijdgenoten is een heel belangrijk onderdeel van het opgroeien van kinderen (en jonge dieren). Wij denken dat spel belangrijk is voor de ontwikkeling van een uitgebreid en flexibel gedragsrepertoire. Aan de andere kant kunnen negatieve sociale gebeurtenissen in de kindertijd langdurige nadelige effecten hebben op sociale en cognitieve vaardigheden en ze vormen daarom een risicofactor voor psychische stoornissen op latere leeftijd. Wij gebruiken daarom de rat als diermodel om te onderzoeken hoe het brein wordt gevormd door sociaal speelgedrag, door zowel gedrag als elektrische activiteit van hersencellen te meten. Doel/hypothese: Tijdelijke sociale isolatie op jonge leeftijd leidt tot een stoornis in cognitieve flexibiliteit, d.w.z. kunnen veranderen van strategie als veranderingen in de

omgeving dat vereisen. Deze stoornis in cognitieve flexibiliteit wordt veroorzaakt door afwijkingen in de functie van de prefrontale cortex, een deel van de hersenschors dat belangrijk is voor complexe mentale functies. Globale aanpak vraagstelling: Jonge ratten zullen sociaal worden geïsoleerd in een periode in hun leven dat ze normaal gesproken veel spelen. Naderhand worden ze weer gehuisvest met andere ratten. Controledieren zullen hetzij niet worden geïsoleerd, of worden geïsoleerd terwijl ze wel een uur per dag mogen spelen. Op volwassen leeftijd zullen wij door middel van twee gedragstesten bepalen in hoeverre de ratten in staat zijn om te veranderen van gedragsstrategie als de regels van een taak plotseling worden veranderd. Daarnaast zal er in andere groepen ratten bepaald worden of de sociale isolatie de elektrische activiteit van cellen in de prefrontale cortex heeft veranderd, omdat wij denken dat veranderingen in cognitieve flexibiliteit veroorzaakt worden door afwijkingen in de functie van de prefrontale cortex.

Titel studie: Neural stem cell transplantation after neonatal hypoxic-ischemic brain damage

DEC nummer: 2014.I.04.029

Neurale stam cel transplantatie na neonatale hypoxisch-ischemische hersenschade

Achtergrond: 2000 Pasgeborenen in Nederland maken rond de geboorte een ernstige mate van zuurstofgebrek (hypoxie-ischemie (HI)) door. Op dit moment zijn er geen effectieve behandelingsmogelijkheden om de hersenschade te repareren. Kennis van de repareer-processen in de hersenen na HI zijn belangrijk voor het opzetten

van een gerichte beschermende therapie. Neurale stamcellen (NSC) zijn cellen in het brein die nieuwe zenuwcellen kunnen vormen. In deze studie zullen we bekijken of het geven van extra NSC de hersenschade na HI kan repareren en of deze cellen kunnen uitrijpen naar nieuwe functionele cellen in de hersenen.

Doel/hypothese: Doel van deze studie is te onderzoeken of muizenpups die na HI behandeld worden met NSC, minder hersenschade en minder motorische afwijkingen hebben dan muizen die behandeld worden met oplosmiddel.

Globale aanpak vraagstelling: Het zuurstofgebrek in de hersenen wordt nagebootst in pasgeboren muizen. De muizen worden hierna behandeld met de NSC of MSC (een andere type stamcellen waarvan we al weten dat ze het brein kunnen repareren) of als controle met het oplosmiddel. Allereerst kijken wij op 18 dagen na het geven van de NSC of de hersenschade verminderd is (gerepareerd) en of de motoriek van de dieren verbeterd is. Verder kijken wij op 5 dagen na de NSC gift of de NSC nieuwe zenuwcellen hebben gevormd. Omdat HI hersenschade een complex proces is wat ontstaat door meerdere systemen, te weten bloedcirculatie, de bloed-hersenbarrière en het immuunsysteem, is het niet mogelijk het HI hersenschade proces na te bootsen met in vitro systeem. Omdat ook het gedrag van de dieren (motoriek) bestudeerd wordt, is het gebruik van het intacte dier onoverkomelijk.

Titel studie: Melanocortins and Food Reward

DEC nummer: 2014.I.04.030

De rol van melanocortines bij motivatie voor voedsel beloning in ratten

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 aantal gevallen van overgewicht en obesitas. Het is bekend dat ratten op een vet- en suikerrijk dieet meer gemotiveerd zijn om te werken voor een lekkere beloning. Melanocortines (MC) zijn hormonen met een sterke anorexogenic werking, dat wil zeggen dat ze de voedselinname verminderen en daardoor zorgen voor een gewichtsverlies. Interessant is dat de receptoren van deze hormonen niet alleen in hersengebieden voorkomen die belangrijk zijn voor regulatie van de voedselinname, maar ook in het beloning centrum (hersengebieden betrokken bij motivatie) van de hersenen. De MC werkt via twee receptoren: MC3 en MC4 receptoren. Stoffen die hierop aangrijpen zijn onder andere, a-MSH (zorgt voor vermindering van voedselinname), een agonist van beide receptoren en AGRP (zorgt voor verhoging van voedselinname), een antagonist. Uit voorgaande experimenten hebben we aangetoond dat injectie van a-MSH in het beloning centrum van de hersenen de motivatie voor een suiker beloning verlaagd en AGRP zorgt voor een verhoging van die motivatie. In het huidige experiment willen we kijken welke MC receptoren verantwoordelijk zijn voor de effecten op motivatie. Er wordt gekeken welke MC receptoren (MC 3 of MC4) betrokken zijn bij de motivatie verandering na infusies met

receptor specifieke stoffen. Hiervoor vergelijken we de effecten van a-MSH (MC3 en MC4) samen met een MC3 en MC4 specifieke antagonist.

Doel/hypothese: Het doel van de studie is om de MC receptoren te identificeren die belangrijk zijn voor de effecten op motivatie. De effecten van a-MSH op motivatie gedrag zijn al bestudeerd. In het huidige experiment gaan we a-MSH samen met een MC3 of MC4 receptor specifieke antagonist injecteren.

Globale aanpak vraagstelling: De hersenen zijn een complex orgaan. Zelfs eenvoudige gedrag, zoals eten en zoeken naar eten, is het gevolg van complexe acties in de hersenen. Interessant is dat stimuli (zoals voedsel) eiwitwaarden in de hersenen kunnen veranderen. We weten al dat 1) MC neuro-eiwitten zijn die een grote invloed hebben op motivatie voor suiker. Verder zijn genetische afwijkingen in het MC4 gen een van de belangrijkste oorzaken van een vorm van obesitas. Uit voorgaande experimenten hebben we al aangetoond dat het MC systeem motivatie voor voedselbeloning reguleert. Met dit experiment gaan we een stapje verder. Hier willen we de MC receptoren die een rol spelen in motivatie gedrag ontcijferen. Motivatie voor suiker wordt bepaald met behulp van een gedragstaak. De ratten worden in een kooi met pedaaltes gezet. Hier moeten ratten op drukken om een suikerbeloning te krijgen. Voor elke volgende beloning moeten ze vaker drukken (1, 2, 4, ..., 1028). We gaan het aantal pedaaldrukken na saline infusie vergelijken met a-MSH en MC3/MC4 specifieke antagonist infusies. We willen ontcijferen welke antagonist (MC3 of MC4) de verlaagde motivatie na a-MSH infusies kan blokkeren. Het experiment is ingedeeld in twee onderdelen. In het

eerste onderdeel gaan we het effect van MC3 antagonist op motivatie gedrag bestuderen en in het onderdeel twee wordt het effect van MC4 op motivatie gedrag bestudeerd. Het bestuderen van voedselinname is complex. Een verhoogde calorische inname kan een gevolg zijn van verhoogde honger, verhoogde motivatie voor het voedsel of verlaagde verzadiging. Helaas kunnen we in mensen deze verschillende aspecten van voedselinname niet bestuderen. Daarom doen we experimenten waar we de verschillende aspecten van voedselinname uit elkaar kunnen halen. Om dit soort experimenten uit te voeren zijn proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: Investigation of how functional connectivity detected with resting state fMRI corresponds to anatomical connectivity in rats

DEC nummer: 2014.I.04.031

Onderzoeken of de fysieke verbindingen in het brein van een rat corresponderen met observaties van fMRI in rusttoestand van de rat

Achtergrond: fMRI in rusttoestand is een techniek die doorgaans gebruikt wordt om bij mensen de hersenactiviteit te onderzoeken. Het bestaat simpelweg uit het scannen van de hersenen van een proefpersoon terwijl deze in rusttoestand is en niets aan het doen is. Men is ervan overtuigd dat wanneer men de hersenen scant wanneer er geen specifieke taken worden uitgevoerd, verbindingen onthuld kunnen worden tussen hersengebieden die samenwerken (ook wel functionele connectiviteit genoemd). Een belangrijke vraag is of deze verbindingen die tijdens functionele connectiviteit gevonden

worden corresponderen met fysieke verbindingen tussen bepaalde gebieden (ook wel anatomische connectiviteit genoemd). Om deze vraag te beantwoorden zijn invasieve technieken nodig, dit maakt het extreem moeilijk om dit bij mensen te onderzoeken. Het bestaan van MRI voor ratten en de reeds bewezen mogelijkheid om in rusttoestand beeldvorming uit te voeren maakt de rat een ideaal dierenmodel voor het onderzoeken en begrijpen van de relatie tussen functionele en anatomische connectiviteit.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om bij ratten te onderzoeken hoe verstoringen in de fysieke verbindingen tussen hersengebieden invloed kunnen hebben op de functionele interactie tussen deze gebieden. De hypothese is dat verstoringen in de fysieke verbindingen tussen hersengebieden resulteren in proportionele veranderingen in de functionele verbindingen. Globale aanpak vraagstelling: Het is van groot belang om de fundamentele van rusttoestand te begrijpen gezien het feit dat een groot aantal studies fMRI in rusttoestand gebruikt voor het verklaren van een verscheidenheid aan aandoeningen die miljoenen patiënten aangrijpen, waaronder autisme en schizofrenie. De resultaten van de in de DEC voorgestelde studie zullen een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan het begrijpen van de fundamentele van beeldvorming in rusttoestand. Voor dit experiment worden via een chirurgische ingreep canules in de hersenen geïmplanterd, met name in het corpus callosum (een groot knooppunt van vezels die verschillende hersengebieden met elkaar verbindt). Vervolgens zullen de dieren naar de MRI-scanner worden gebracht (hierbij zal de narcose op geen enkele moment onderbroken worden) en er

zal een sessie beeldvorming plaatsvinden, bestaande uit: 1) Baseline periode (max. 20 min); 2) Test periode: in deze fase zullen alle proefdieren een zoutoplossing (controle groep) of lidocaïne (experimentele groep) toegediend krijgen. Lidocaïne is een verdovingsmiddel dat tijdelijk het corpus callosum verstoort. In beide groepen zullen de zoutoplossing en lidocaïne via de canules worden toegediend; 3) Na de toediening van zoutoplossing of lidocaïne zullen de dieren gedurende 60 tot 90 minuten worden gescand; 4) Direct na de scansessie zullen via beide canules tracers worden toegediend (tracers zijn moleculen die door de gehele lengte van een neuron bewegen, en daarmee onderzoekers de mogelijkheid geven om te lokaliseren waar een neuron zich naartoe projecteert), dit zal gebeuren terwijl de dieren nog onder narcose zijn. De dieren zullen vervolgens in een warme deken omhuld worden om te herstellen van de verdoving; wanneer ze wakker zijn worden ze opnieuw afzonderlijk in hun kooien geplaatst; 6) 1 a 2 dagen na de scansessie zullen de dieren worden opgeofferd door middel van een overdosis pentobarbital i.p., de hersenen zullen ten slotte worden verwijderd voor het onderzoeken van de tracer verspreiding.

Vergadering 7 mei 2014

Titel studie: Individuele variatie in sociaal spelgedrag en alcoholinname

DEC nummer: 2014.I.05.032

Individuele variatie in sociaal spelgedrag en alcoholinname

Achtergrond: Sociaal gedrag tijdens het opgroeien, voornamelijk 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 waaronder verhoogde gevoeligheid voor verslavende stoffen zoals alcohol. Deze vindingen geven aan dat de mate van sociaal spelgedrag gedurende de adolescentie kan bijdragen aan de gevoeligheid van een individu om een alcoholverslaving te ontwikkelen.

Doel/hypothese: Opheldering geven over de relatie tussen sociaal spelgedrag gedurende de ontwikkeling en de gevoeligheid voor alcoholverslaving op latere leeftijd.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek worden ratten op jonge leeftijd gekarakteriseerd voor de mate van sociaal spelgedrag. Vervolgens krijgen de dieren gedurende de adolescentie en/of de volwassenheid tijdens gedragstesten 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 mate van controle die de dieren hebben over hun alcoholinname.

Titel studie: The involvement of beta arrestins and ERK in metaplasticity in the amygdala

DEC nummer: 2014.I.05.033

De rol van beta arrestins en ERK in metaplasticiteit in de amygdala

Achtergrond: Stress is een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen als depressie, angststoornissen en het posttraumatische stresssyndroom. Onze groep is geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle situaties en de daarmee gepaarde hormonale veranderingen de communicatie tussen hersencellen beïnvloeden. We verwachten op termijn met ons onderzoek een bijdrage te kunnen 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: Het is bekend dat de blootstelling van hersencellen aan het stresshormoon corticosteron via receptoren (bijvoorbeeld mineralocorticoid receptoren, MR) tot een veranderde communicatie tussen cellen kan leiden. Recentelijk hebben we in de basolaterale amygdala (BLA) gemeten dat een tweede blootstelling aan corticosteron tot een tegenovergestelde verandering leidt ten opzichte van de eerste blootstelling.

Dit fenomeen heet “stress metaplasticiteit”. We vermoeden dat het verdwijnen van MR aan het celoppervlak, een proces dat internalisatie heet, hier een belangrijke rol bij speelt. We willen onderzoeken wat het onderliggende mechanisme van internalisatie van MR in de BLA is. Beta arrestin1 en beta arrestin2 zijn eiwitten die bij internalisatie van verschillende receptoren cruciaal zijn. Om te onderzoeken of deze eiwitten voor de internalisatie van MR belangrijk zijn, zullen we genetisch gemodificeerde muizen gebruiken waarin beta arrestin1 of beta arrestin2 ontbreekt. Bovendien willen we onderzoeken of er verschillen zijn in de internalisatie van MR tussen mannelijke en vrouwelijke dieren die niet genetisch gemodificeerd zijn. Hiernaast zullen we experimenten doen met blokkers van extracellulaire signaal-gereguleerde kinase (ERK) activiteit om te achterhalen of internalisatie via activatie van de ERK signaleringscascade verloopt. Deze signaleringscascade is betrokken bij allerlei belangrijke cellulaire processen. Met deze experimenten hopen we de achterliggende mechanismen van stress metaplasticiteit in de BLA in kaart te brengen. De experimenten worden uitgevoerd in vers gesneden hersenplakjes van muizen met een elektrofysiologische techniek. Het meten van de elektrische activiteit in hersenplakjes 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 de embryonale periode en daardoor is het gebruik van gekweekte (primaire) cellen en cellijnen niet mogelijk. Verder zijn er geen goede vervangende methoden aanwezig.

Titel studie: Het effect van early life stress op de functionele en structurele plastische ontwikkeling van de prefrontale cortex

DEC nummer: 2014.I.05.034

Het effect van stress tijdens het vroege leven op de ontwikkeling van de stress as en hersenfunctie

Achtergrond: Negatieve stressvolle gebeurtenissen gedurende de vroege (postnatale) periode na de geboorte brengen een toegenomen risico op neurologische en psychiatrische aandoeningen op volwassen leeftijd met zich mee. Gedragsstudies in knaagdieren laten zien dat in de eerste levensweek moederzorg de belangrijkste omgevingsfactor is die de stressgevoeligheid en de cognitieve prestaties als volwassen dier beïnvloedt. Het onderliggende mechanisme in het brein maar ook hoe dit zich ontwikkelt over tijd is echter niet bekend.

Doel/hypothese: In dit project bestuderen we in proefdieren (muizen) of een stress situatie tijdens de eerste levensweek (early life stress, ELS) permanente gevolgen heeft voor de functie van de hersenen. Ook bestuderen we over tijd hoe deze veranderingen tot stand komen door de parameters op kritieke momenten tijdens ontwikkeling te bestuderen (o.a. puberteit, volwassenheid etc.).

Globale aanpak vraagstelling: De ELS situatie bestaat uit het verminderen van nestmateriaal en bedding waardoor de zorg van de moeder voor de pups fragmentarisch wordt gedurende een periode van 7 dagen na de geboorte. Met dit diermodel simuleren we een situatie vergelijkbaar met een humane, waarin kinderen vroeg in het leven chronische stress ondervinden in aanwezigheid van de moeder. Enerzijds bestuderen we directe veran-

deringen door direct na de stressor te kijken, anderzijds de lange termijn effecten van de prefrontale cortex in het brein (belangrijk voor cognitie en geheugen). Hierdoor kunnen we ons begrip vergroten van de ontstaansmechanismen van neuro psychiatrische aandoeningen die mogelijk nieuwe therapeutische toepassing kunnen hebben. De complexiteit van de experimenten in combinatie met het ontwikkelingsaspect maakt dat deze experimenten niet in andere onderzoeksysteem dan in proefdieren te onderzoeken zijn. Gezien het maatschappelijke en wetenschappelijke belang van deze experimenten en het geringe/matige ongerief dat de dieren ondervinden vinden we deze proeven ethisch aanvaardbaar.

Vergadering 4 juni 2014

Titel studie: The effect of the Cntnap2 gene on social behavior in mice

DEC nummer: 2014.I.06.035

De functie van het Cntnap2 gen in autistisch gedrag

Achtergrond: Cntnap2 is een kandidaat gen voor verschillende psychiatrische aandoeningen, waaronder autisme, het missen van dit gen zou dus kunnen leiden tot symptomen van deze aandoeningen. In een eerdere studie is gebleken dat muizen die dit gen niet hebben verhoogd repetitief poetsgedrag-achtig gedrag vertonen, last hebben van tics en onwillekeurige bewegingen vroeg in hun ontwikkeling. In deze studie zouden we willen weten of deze repetitieve gedragspatronen worden teruggevonden in motorieke en cognitieve mechanismen door het gebruik van de object exploratie taak. Daarnaast willen we ook testen of een ander belangrijk domein van autisme, het sociaal gedrag, is aangetast in muizen zonder Cntnap2 gen.

Doel/hypothese: Wat is het effect van het Cntnap2 gen op het sociale en repetitieve (herhalende) gedrag van een normale muis?

Globale aanpak vraagstelling: De muizen zullen 3 verschillende gedragstesten ondergaan. De eerste test, sociaal gedrag bij jonge muizen, vindt plaats op de leeftijd van 3 weken. Wanneer ze volwassen zijn worden ze getest op het herkennen van muizen (sociale herkenning) en hun stereotiepe herhalende gedrag. Nadien worden

de hersenen onderzocht op afwijkingen in structuur. Het gebruik van proefdieren (muizen) is hier noodzakelijk, aangezien gedragstesten nog niet op een ander model (computermodel, cellen) uitgevoerd kunnen worden. Tevens gebeurt bloedafname ook enkel vanuit het proefdier, omdat dit de actuele status van de vetzuurconcentraties in het lichaam weergeeft. Dit maakt het mogelijk om dit te relateren aan de gedragsresultaten.

Titel studie: Effects of the circadian rhythm on the response to stress hormones in the amygdala

DEC nummer: 2014.I.06.036

De effecten van het dag-nachtritme op de respons op stresshormonen in de amygdala

Achtergrond: Stress is een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen als depressie, angststoornissen en het posttraumatische stresssyndroom. Onze groep is geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle situaties en de daarmee gepaarde hormonale veranderingen de communicatie tussen hersencellen beïnvloeden. We verwachten op termijn met ons onderzoek een bijdrage te kunnen 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: Het is bekend dat de blootstelling van hersencellen aan het stresshormoon corti-

costeron via receptoren (bijvoorbeeld mineralocorticoid receptoren, MR en glucocorticoid receptoren, GR) tot een veranderde communicatie tussen cellen kan leiden. Recentelijk hebben we in de basolaterale amygdala (BLA) gemeten dat een tweede blootstelling aan corticosteron tot een tegenovergestelde verandering leidt ten opzichte van de eerste blootstelling. Dit fenomeen heet "stress metaplasticiteit". Stress metaplasticiteit betekent dat de respons op het stresshormoon corticosteron afhangt van eerdere blootstelling(en) aan corticosteron. Dit is relevant omdat we weten dat het brein voortdurend wordt blootgesteld aan een vast patroon van golven corticosteron. Dit gebeurt in een dag-nachtritme waarbij (dag)licht een bepalende factor is. In dit onderzoek willen we de actieve en de inactieve fase in het dag-nachtritme van de proefdieren "in vitro" (d.w.z. niet in het levende organisme, maar in hersenplakjes) nabootsen. Op deze manier kunnen we onderzoeken wat het effect van dit ritme is op stress metaplasticiteit. We doen de metingen op twee momenten in het dag-nachtritme van deze nachtdieren; als de dieren hun inactieve fase ingaan (als het licht in de stallen net aan is) en als de dieren hun actieve fase ingaan (als het licht in de stallen net uit is). Voor deze experimenten zullen we dus ook dieren in een omgekeerd dag-nachtritme gebruiken. De BLA plakken van de dieren stellen we bloot aan af-en oplopende concentraties corticosteron. Hiermee bootsen we de verschillende golven corticosteron na die in de actieve en inactieve fase plaatsvinden in het brein. Verder willen we ook beide groepen dieren gebruiken voor experimenten met 4 gelijke hoge concentraties corticosteron. Met deze experimenten kunnen we beoordelen of en hoe

stress metaplasticiteit wordt beïnvloedt door het dag-nachtritme van het proefdier. De experimenten worden uitgevoerd in vers gesneden hersenplakjes van muizen met een elektrofysiologische techniek. Het meten van de elektrische activiteit in hersenplakjes 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 signaal-overdracht van hersencellen verandert gedurende de embryonale periode en daardoor is het gebruik van gekweekte (primaire) cellen en cellijnen niet mogelijk. Verder zijn geen goede vervangende methoden aanwezig. De signaaloverdracht van hersencellen verandert gedurende de embryonale periode en daardoor is het gebruik van gekweekte (primaire) cellen en cellijnen niet mogelijk. Verder zijn er geen goede vervangende methoden aanwezig.

Titel studie: Pilot study for a food motivation test in low birth weight piglets as compared to their normal birth weight siblings

DEC nummer: 2014.I.06.037

Voorbereidende studie naar een voedingsmotivatietest waarin biggen met een laag geboortegewicht worden vergeleken met normaal geboortegewicht biggen

Achtergrond: Bij voorgaande studies is gebleken dat biggen met laag geboortegewicht, tegen verwachting in, tijdens een leertaak beter presteerden dan biggen met normaal geboortegewicht. Eén van de mogelijke verklaringen voor dit resultaat is dat biggen met een laag geboortegewicht gemotiveerder zijn om voedsel-

beloningen te verkrijgen dan normaal geboortegewicht biggen. Om dit te onderzoeken willen wij de biggen een taak laten uitvoeren die meet hoe gemotiveerd zij zijn om een voedselbeloning te verkrijgen om vervolgens de resultaten van biggen met een laag geboortegewicht te vergelijken met die van normaal geboortegewicht biggen. Tijdens deze voedingsmotivatietaak draaien de varkens aan een wiel waarna zij een voedselbeloning ontvangen. Met elke voedselbeloning neemt de frequentie waarmee zij aan het wiel moeten draaien om de beloning te verkrijgen toe. Het hoogste aantal keer dat het varken bereid is om aan het wiel te draaien voor een voedselbeloning wordt als maat genomen voor de motivatie van dat varken om de beloning te verkrijgen. Voordat wij met deze taak kunnen starten, dient er een korte voorbereidende studie te worden gedaan met de testopstelling van de motivatietaak. Deze voorbereidende studie willen wij uitvoeren met biggen die al hebben deelgenomen aan een eerdere studie. Deze biggen zijn zeer geschikt om de voorbereidende studie mee uit te voeren omdat zij reeds gewend zijn aan mensen en verder niet voor andere studies zullen worden ingezet tijdens de periode totdat zij hun slachtgewicht bereiken (als zij ongeveer 6 maanden oud zijn). De resultaten tijdens deze voorbereidende studie kunnen ook extra informatie geven over het onderzoek waar zij al voor gebruikt zijn, namelijk naar effecten van toomgrootte op cognitieve ontwikkeling. Doel/hypothese: Het doel van deze korte, voorbereidende studie is om een methode voor de motivatietaak te ontwikkelen zodat duidelijk zal worden hoe het experiment tijdens het onderzoek naar de motivatie van biggen met (zeer) laag geboortegewicht precies dient te worden

uitgevoerd. De resultaten van deze voorbereidende studie zullen daarnaast mogelijk aanvullende informatie opleveren over de motivatie van de biggen waarmee de voorbereidende studie wordt gedaan. Deze informatie zou een mooie aanvulling zijn op de resultaten van het huidige gedragsonderzoek dat met deze biggen wordt uitgevoerd.

Globale aanpak vraagstelling: Tijdens deze korte, voorbereidende studie zal de motivatietest worden doorlopen door tien varkens geboren in een relatief grote toom (18 biggen en meer) en tien varkens geboren in een relatief kleine toom (13 biggen en minder). Het gaat om twintig varkens die op dit moment in een gedragsstudie gebruikt worden waarbij de mentale capaciteiten en emotionaliteit van biggen afkomstig uit verschillende toomgrootten worden vergeleken. De testfase van deze gedragsstudie zal geheel zijn afgerond bij aanvang van de voorbereidende studie voor de motivatietest. De voedselbeloning waarvoor de motivatie wordt gemeten zal overeenkomen met de voedselbeloning die zij tijdens de halebord taak in hun voorgaande testfase hebben gekregen (M&M's) en mogelijk ook regulier voer. De inzet van proefdieren is hier noodzakelijk omdat informatie over de motivatie van biggen om een voedselbeloning te verkrijgen alleen kan worden ingewonnen door het gedrag van levende biggen in een gecontroleerde omgeving te onderzoeken. De varkens in dit experiment zullen gering ongerief ervaren gedurende de onderzoeksperiode.

Titel studie: Pilot study: migration of neural-crest-derived stem cells in deafened mice

DEC nummer: 2014.I.06.038

Het volgen van de migratie, overleving en integratie van stamcellen uit de neurale lijst in doof muizen

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 beperkingen introduceert in het leven van geïmplanteerde patiënten. Het apparaat is weinig effectief op plaatsen waar veel achtergrondgeluid is, bijvoorbeeld 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 zijn nog in een vroege fase, maar de resultaten zijn veelbelovend. Een paar studies laten regeneratie van haarcellen zien in kweekbakjes met geïsoleerde cochlea's en zeer specifieke groeifactoren. Een groep liet zien dat met behulp van neurale stamcellen in woestijnratten het gehoor beter werd. Ons doel is aan te tonen dat neurale stamcellen, die exogeen toegediend worden in volwassen doof gemaakte muizen de cochlea bereiken. Daaropvolgend zullen we kijken of er regeneratie plaats vindt van de sensorische cellen. Als we hierin slagen, leveren we een belangrijke bijdrage aan de ontwikkeling van een nieuwe methode om ernstige slechthorendheid te genezen.

Doel/hypothese: Het doel is de migratie, overleving en integratie van neurale stamcellen te kunnen volgen en aantonen dat ze in de cochlea terecht komen.

Globale aanpak vraagstelling: Deze studie is een pilot voor het monitoren van de migratie en integratie van stamcellen in het slakkenhuis van de muis. Wij hebben gekozen voor de muis, omdat deze soort het meest gebruikt wordt in stamcelstudies. Daarnaast heeft de muis een binnenoor dat lijkt op dat van een mens, hoewel de gevoeligheid in een veel hoger frequentiegebied ligt. Het bestuderen van het proces van doof worden en de daarbij horende processen van de- en regeneratie kan in zo'n complex orgaan alleen in levende dieren worden gedaan, niet in bijvoorbeeld celculturen.

Vergadering 25 juni 2014

Titel studie: Effect van maternale deprivatie op de glutamaterge transmissie in de hippocampus

DEC nummer: 2014.I.06.039

Effect van stress in het vroege leven op glutamaterge transmissie in de hersenen

Achtergrond: Stress op jonge leeftijd is een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen zoals depressie, angststoornissen en posttraumatische stress syndroom. Eerder onderzoek wijst uit dat stress op jonge leeftijd blijvende veranderingen veroorzaakt in de communicatie tussen hersencellen. Hierbij speelt het exciterende neurotransmitter glutamaat een grote rol. Het precieze mechanisme waarmee dit gebeurt, is echter nog grotendeels onbekend. Wij zijn geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle ervaringen op jonge leeftijd de glutamaterge communicatie tussen hersencellen beïnvloedt. Ook willen wij onderzoeken hoe deze effecten zich ontwikkelen vanaf de stressvolle ervaring tot aan volwassenheid en wat de verschillen tussen man en vrouw zijn. Met deze kennis kan het mechanisme worden begrepen waarop stress op jonge leeftijd het risico op psychiatrische aandoeningen in het latere leven kan vergroten. Deze kennis kan vervolgens gebruikt worden om therapeutische interventies te ontwikkelen om psychiatrische aandoeningen te voorkomen of te behandelen. Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te bepalen hoe stressvolle ervaringen op jonge leeftijd de signaal-

doorgifte van glutamaat in de hersenen beïnvloedt. Doordat we op verschillende leeftijden metingen zullen uitvoeren, kan het exacte verloop van deze veranderingen worden vastgesteld. Deze kennis is nodig om te begrijpen hoe stress op jonge leeftijd het risico op psychiatrische aandoeningen vergroot. Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen op de derde dag na de geboorte voor 24 uur van de moeder worden gescheiden. Dit is voor zowel de moederrat als de pups een zeer stressvolle ervaring. Op verschillende kritieke punten in de ontwikkeling (oa adolescentie) van de rat wordt bekeken wat het effect van deze stressvolle ervaring is op de signalering van glutamaat in de hersenen. Deze handelingen zijn in mensen niet op deze manier mogelijk. Nieuwe inzichten naar aanleiding van deze studie kunnen op termijn mogelijk therapeutische toepassingen hebben.

Titel studie: Welzijn: adaptatie en beloningsgevoeligheid

DEC nummer: 2014.I.06.040

Welzijn: aanpassingsvermogen en beloningen als positief kunnen ervaren

Achtergrond: Dierenwelzijn is een actueel en belangrijk onderwerp. Welzijn wordt mede bepaald door de mogelijkheid van een individu om (1) zich aan te passen aan de continue veranderende omgeving en (2) positieve beloningen als positief te ervaren. In dit onderzoek willen we de relatie tussen deze factoren en mogelijke welzijnsindicatoren onderzoeken. Hiervoor maken we gebruik van modellen waarin ratten of muizen individuele

verschillen in aanpassingsvermogen of beloningsgevoeligheid laten zien.

Doel/hypothese: Opheldering van de relatie tussen aanpassingsvermogen en de beloningsgevoeligheid van individuele ratten of muizen.

Globale aanpak vraagstelling: Ratten en muizen worden gekarakteriseerd voor zowel aanpassingsvermogen en beloningsgevoeligheid. Voor bepaling van het aanpassingsvermogen worden de dieren getest in nieuwe omgevingen en in een sociale context. Beloningsgevoeligheid wordt bepaald door de mate van alcohol en sucrose inname te meten in vrijwillige consumptiemodellen.

Titel studie: The role of 5-HT_{1A} receptor in the extinction of conditioned fear

DEC nummer: 2014.I.06.041

De rol van de serotonine_{1A} receptor bij de regulatie van geconditioneerde angst

Achtergrond: Een angststoornis kan op verschillende manieren ontstaan. Enerzijds kan dit doordat iemand niet goed kan bepalen wanneer een bedreigende situatie zich voordoet (een acquisitie probleem). Als gevolg daarvan zal zo'n persoon dan constant bang zijn. Anderzijds kan het probleem zich voordoen als iemand aanhoudend bang blijft in een situatie die niet langer bedreigend is (een extinctie probleem). Wij onderzoeken in mensen en dieren of bepaalde geneesmiddelen het extinctie probleem (in combinatie met cognitieve gedragstherapie) kunnen verminderen (of wel: het extinctie proces kunnen bevorderen). Kleine variaties in een gen dat de informatie bevat voor het vormen van een receptor, kunnen er toe

leiden dat de functionaliteit van zo'n receptor bij de ene persoon anders is dan bij de andere persoon. Omdat receptoren belangrijk zijn voor de communicatie tussen zenuwcellen, kan een gen-variatie er voor zorgen dat sommige mensen angstiger zijn dan andere mensen.

Aangetoond is dat mensen met een polymorfisme (gen variatie) in de serotonine_{1A} receptor angstiger zijn, dan mensen met een ander polymorfisme van dat gen.

Doel/hypothese: Met deze experimenten gaan we onderzoeken waarom dit polymorfisme leidt tot meer angst. Thans is namelijk niet bekend of bij mensen met het afwijkende polymorfisme de serotonine_{1A} receptor efficiënter werkt of juist niet. Daarnaast onderzoeken wij in welk deel van de hersenen de serotonine_{1A} receptor angst beïnvloedt. Het deel dat de activiteit van de zenuwcellen regelt, of het gedeelte waar de neurotransmitter zijn effect uitoefent op andere zenuwcellen.

Globale aanpak vraagstelling: Om deze vragen te beantwoorden werken wij met ratten. Het onderzoek kan niet bij mensen worden uitgevoerd omdat er niets bekend is over de toxiciteit van de te gebruiken farmaca. De farmaca die we testen werken in verschillende hersengebieden. Op die manier kunnen we bepalen welke hersengebieden van belang zijn. De ratten wordt geleerd dat als er een signaleringslicht aangaat dit gevolgd wordt een voetschok (acquisitie). Voorafgaand aan deze training worden ze geïnjecteerd met een farmacon, zodat we kunnen onderzoeken of het farmacon dit leer proces beïnvloedt. De dieren worden een week later nog een keer getraind, nu zonder farmacon, en ingedeeld op basis van de grootte van de schrik reactie op het licht. Dan volgt het extinctie onderzoek. De dieren worden geïnjecteerd

met een farmacon en vervolgens krijgen ze een extinctie training: het signaleringslicht wordt meerdere malen aangeboden, maar wordt nu niet gevolgd door een schok. Tijdens deze training meten wij hoe snel de schrik reactie opgewekt door het licht afneemt en of dat proces sneller verloopt wanneer ze behandeld zijn met een bepaald farmacon.

Titel studie: Bestuderen van de rol van FAM173b en het onderliggende mechanisme in het ontstaan van chronische pijn

DEC nummer: 2014.I.06.042

De rol van een nieuw eiwit en de daarbij behorende onderliggende mechanismes ontrafelen die verantwoordelijk zijn voor het ontstaan van chronische pijn

Achtergrond: Een belangrijk deel van de patiënten met een ontsteking blijft pijn houden nadat de ontsteking genezen is. Deze vorm van chronische pijn is moeilijk te behandelen, vooral omdat niet bekend is welke mechanismen er aan ten grondslag liggen.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om het mechanisme te bestuderen hoe het nieuwe eiwit chronische pijn kan reguleren.

Globale aanpak vraagstelling: Veranderingen in pijngevoeligheid is het resultaat van complexe veranderingen op de plek waar de ontsteking is en daar waar de pijnprikkel worden gedetecteerd en waar ze verder worden verwerkt. De rol van specifieke eiwitten in pijnmodulatie kan daarom enkel en alleen in intacte proefdieren worden gedaan. Muizen zullen een ontstekingsprikkel in de poot krijgen die zorgt voor overgevoeligheid voor

aanraking en/of warmte prikkels. Dit is een veelgebruikt modelsysteem om de mechanismen van chronische pijn te onderzoeken. In deze studie gaan we onderzoeken wat er gebeurt met de pijn response als we de expressie van dit nieuwe eiwit verhogen in een specifieke cel. Daarnaast willen we bestuderen of de activiteit van dit nieuwe eiwit van belang is voor het ontstaan van chronische pijn en of het eiwit werkt via de productie van reactie stoffen die ontstaan zijn in zenuwcellen.



Titel studie: Repetitief gedrag na blootstelling aan sociale intruder

DEC nummer: 2014.I.06.043

Repetitief gedrag na blootstelling aan sociale stress

Achtergrond: Autisme is een ernstige neuro psychiatrische aandoening, die gekenmerkt wordt door problemen in sociale en communicatieve vaardigheden en repetitieve gedragingen. In de gedragsstudies die wij hebben uitgevoerd, is ons opgevallen dat de muizen met een genetische afwijking (Cntn5-ko) meer repetitief gedrag laten zien na het ervaren van sociale stress. In normale omstandigheden niet het geval is. Gezien de sterk aanwezige link met ASS-fenotypes willen wij hier ons verder in verdiepen.

Doel/hypothese: Wij verwachten dat specifiek na stress (sociale intruder, maar wellicht ook na het introduceren van een onbekend object) mutant muizen een verhoogde mate van repetitief gedrag laten zien. Het combineren van dit resultaat met onze bevindingen in het neurobiologisch onderzoek zal ons vele inzichten opleveren.

Globale aanpak vraagstelling: Mannelijke muizen zullen in een schone kooi worden geplaatst. De nieuwe omgeving daagt de muizen uit en zij zullen een bepaalde mate van zelfverzorging tonen. Dit wordt opgenomen om later te worden geanalyseerd. Na 5 minuten wordt er een andere muis geïntroduceerd, een onbekend object of er wordt niets gedaan. De andere muis of het onbekende object

Foto's links: Normaal sociaal gedrag bij de muis. Een gezonde laboratoriummuis is alert, nieuwsgierig, gaat sociale interacties aan en ziet er doorvoed en verzorgd uit. Hier twee muizen die elkaar voor het eerst ontmoeten en die dit gedrag laten zien.

blijft 2 minuten in de kooi. Daarna wordt nogmaals 5 minuten het gedrag opgenomen om de mate van zelfverzorging te analyseren. Muislijnen waarin een specifiek gen is uitgeschakeld zijn hierbij van groot belang. Verschillen tussen de muizen kunnen direct toegewezen worden aan het genetische verschil en gekoppeld worden aan de neurobiologische processen die mislopen in afwezigheid van het eiwit.

Titel studie: Functionele analyse van SMN eiwit middels in utero electroporatie en een transgeen muismodel voor SMA

DEC nummer: 2014.I.06.044

Rol van SMN eiwit in spinale musculaire atrofie

Achtergrond: (Proximale) spinale musculaire atrofie (SMA) is de meest voorkomende genetische oorzaak van kindersterfte in de wereld (ongeveer 1 op 6000-10000 geboorten). De ziekte wordt veroorzaakt door mutaties in het SMN gen (ca. 1/40-1/60 van alle mensen is drager). Bij SMA sterven motorneuronen in het ruggenmerg af die betrokken zijn bij het aansturen van spieren. Dit leidt tot progressieve spierzwakte. Wat er precies misgaat in de zenuwcellen van patiënten waardoor de ziekte zich manifesteert is onbekend. Inzicht in de ziekteprocessen die SMA veroorzaken is essentieel om tot mogelijke therapieën te komen.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het begrijpen van de functie van het SMN eiwit in zenuwcellen en hoe afwijkingen in dit SMN eiwit kunnen leiden tot ziekte.

Globale aanpak vraagstelling: Om de functie van het SMN eiwit te kunnen bestuderen zullen wij onderzoeken hoe specifieke afwijkingen in dit eiwit kunnen leiden tot ziekte. Daarom zullen wij gaan kijken naar andere eiwitten die interacties aangaan met het SMN eiwit. Dit geeft ons nieuwe inzichten over de processen waarbij SMN betrokken is en hoe afwijkingen in SMN kunnen leiden tot verstoring van deze processen en uiteindelijk tot ziekte. Omdat SMA een ziekte van zenuwcellen is hebben wij proefdieren nodig (muizen): zenuwcellen zijn moeilijk te kweken en een muismodel is ideaal om zenuwcellen en de rol van het SMN eiwit in natuurlijke omgeving te onderzoeken. Zenuwcellen uit dit muismodel zullen gebruikt worden voor het beantwoorden van de eerder genoemde onderzoeksvragen met betrekking tot eiwit-interacties en functionele aspecten. In de opzet van het onderzoek zullen wij dus gebruik maken van gekweekte zenuwcellen uit genetisch gemodificeerde dieren die SMA nabootsen om zo de functionele veranderingen die in deze ziekte optreden te bestuderen (veranderende eiwit-eiwit interacties en functioneren van zenuwcellen). Bovendien zullen wij via in utero electroporatie de rol van SMN in het zich ontwikkelende zenuwstelsel kunnen bekijken en het ziekteproces proberen te vertragen en/of ziekte te voorkomen.

Titel studie: Fok SMA [FVB.Cg-Tg(SMN2)89Ahmb Smntm1Msd/J]

DEC nummer: 2014.I.06.045

(Proximale) spinale musculaire atrofie (SMA) is de meest voorkomende genetische oorzaak van kindersterfte in de wereld (ongeveer 1 op 6000-10000 geboorten). De

ziekte wordt veroorzaakt door mutaties in het SMN gen (ca. 1/40-1/60 van alle mensen is drager). Bij SMA sterven motorneuronen in het ruggenmerg af die betrokken zijn bij het aansturen van spieren. Dit leidt tot progressieve spierzwakte. Wat er precies misgaat in de zenuwcellen van patiënten waardoor de ziekte zich manifesteert is onbekend. Inzicht in de ziekteprocessen die SMA veroorzaken is essentieel om tot mogelijke therapie te komen. Dit diermodel (in muizen) stelt ons in staat te bestuderen wat er precies misgaat in SMA en hoe deze defecten hersteld zouden kunnen worden.

Titel studie: The effects of GOS/FOS, Bifidobacterium Breve and glutamine on behavioral, brain and immune deficits induced by intrauterine inflammation and involvement of the gut microbiome

DEC nummer: 2014.I.06.046

De effecten van voedingscomponenten (pre- en probiotica en glutamine) op afwijkingen in gedrag, brein en immuun systeem geïnduceerd door ontsteking in de baarmoeder. De betrokkenheid van de darm en het darm microbiom

Achtergrond: Dit onderzoek is onderdeel van een lopend consortium waarin onderzoekers meer inzicht hopen te krijgen in de ontwikkeling van de hersenen van te vroeg geboren baby's, door middel van klinische en preklinische studies. Het onderzoek richt zich hierbij op de zogeheten 'gut-immune-brain-axis' (ofwel de drie-eenheid: darmkanaal/immuunsysteem/hersenen) en de rol van voeding. Op deze manier ontstaat er een duidelijker beeld van de wijze waarop bepaalde voeding de ontwikkeling van de

hersenen kort na de geboorte kan ondersteunen, evenals de gevolgen hiervan op latere leeftijd. Ontsteking in de baarmoeder is een belangrijke oorzaak van vroeggeboorte en geeft een verhoogde kans op een verstoorde ontwikkeling van het brein. Ontsteking in de baarmoeder bij muizen leidt tot immuun activatie in het brein later in het leven. Dit muizenmodel geeft meer inzicht in de mechanismen waarop intra uterine inflammatie schade toebrengt aan het brein en dus de kans op neuronale ontwikkelingsstoornissen verhoogt. Eerdere studies hebben aangetoond dat toevoeging van glutamine aan voeding de breinontwikkeling van te vroeg geboren baby's kan verbeteren. Daarnaast is aangetoond dat toevoeging van pre- en probiotica aan voeding de ontwikkeling van het immuunsysteem van te vroeg geboren baby's ondersteunt. De effecten van de combinatie van deze componenten op breinontwikkeling en immuun activatie in te vroeg geboren baby's zal worden onderzocht in een klinische studie.

Doel/hypothese: In dit experiment wordt onderzocht hoe de combinatie van glutamine, pre- en probiotica mogelijk breinontsteking en gedragsafwijkingen als gevolg van ontsteking in de baarmoeder kan behandelen en op die wijze de ontwikkeling van het brein ondersteunt.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek gebruiken we een muizenmodel voor ontsteking in de baarmoeder, waarbij op dag E15 van de zwangerschap lipopolysaccharide (LPS) geïnjecteerd wordt in de baarmoeder. LPS is een onderdeel van gramnegatieve bacteriën en veroorzaakt activatie van het immuunsysteem in de baarmoeder. Dit leidt tot breinontsteking en veranderingen in gedrag later in de nakomelingen later in het

leven. Vanaf de dag van geboorte worden moeders en pups op een controle dieet een glutamine pre- en probiotica dieet gezet. De nakomelingen worden blootgesteld aan verschillende gedragstesten die richten op angst, sociaal gedrag, denk- en bewegingsvermogen. Na afloop worden weefsels verzameld voor verder onderzoek naar breinontwikkeling en het immuunsysteem.

Titel studie: Ontwikkelen taken voor consumer demand studie fretten

DEC nummer: 2014.I.06.047

Het ontwikkelen van taken voor gebruik in een consumer demand studie bij fretten

Achtergrond: In een consumer demand studie is het de bedoeling dat een dier een taak uitvoert om toegang tot een bron te verkrijgen. De taak wordt steeds moeilijker gemaakt en het moment waarop het dier niet meer bereid is om de 'prijs' voor de bron te betalen geeft de waarde van de verrijking voor het dier aan. In eerder onderzoek is gebleken dat het duwen tegen een verzwaarde deur geen geschikte taak is voor fretten. De dieren duwen tot hun maximale kunnen voor een leeg compartiment, zelfs als ze hier ook 'gratis' toegang tot hebben. De taak is dus te leuk voor de fretten. In dit onderzoek worden verschillende alternatieve taken, zoals het duwen op een hendeltje of het trekken aan een touwtje, getest op geschiktheid voor gebruik in een consumer demand studie.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om een taak te ontwikkelen die geschikt is om te gebruiken in een consumer demand studie.

Globale aanpak vraagstelling: De fret wordt 24 uur per dag gehuisvest in een hok dat bestaat uit twee compartimenten. In het thuiscompartiment staan een nesthok en water, in het andere compartiment staat voer. De fret kan van het thuiscompartiment naar het voercompartiment komen door een taak uit te voeren. De fret kan weer terug naar het thuiscompartiment door een kattenluikje. De fret wordt eerst getraind in het uitvoeren van de taak. Daarna wordt getest hoeveel de fret wil 'betalen' om bij voedsel te komen. Daarna wordt getest hoeveel de fret wil 'betalen' om toegang tot een leeg compartiment te krijgen (het voer wordt dan in het thuiscompartiment geplaatst) en tot slot wordt getest of de fret ook nog betaalt als zij ook 'gratis' toegang tot het lege compartiment heeft. Voor dit onderzoek is de inzet van proefdieren noodzakelijk omdat het een vraag over het gedrag van fretten betreft.

Vergadering 13 augustus 2014

Titel studie: Hypothalamus-Brain stem connections in mediating thermogenesis

DEC nummer: 2014.I.08.048

Thermogenese gemediteerd door de hypothalamus-hersenstam projecties

Achtergrond: Obesitas is wereldwijd een groeiend probleem. Inname van minder calorieën is een manier om af te vallen. Helaas heeft lijnen ook nadelen zoals verminderde therapietrouw en dus gewichtstoename. Om lijnen na te bootsten werden dieren voor vier weken blootgesteld aan een vet en suiker rijk dieet (HFHS). Vervolgens werden de vet en suikerrijke bestanddelen van het dieet weggehaald. Het HFHS dieet bestaat uit voerbrokken (voeding voor de controle dieren), 30% suiker oplossing en een bakje met vet. Na het weghalen van de vet en suiker rijke bestanddelen, namen de dieren minder calorieën in, maar vielen ze niet af. Interessant was dat de dieren ook een lage lichaamstemperatuur hadden. De lage lichaamstemperatuur kwam door een laag circulerend leptine spiegel en na een injectie met leptine ging de lichaamstemperatuur weer omhoog. In het daarop volgende experiment hebben we aangetoond dat leptine infusie in de DMH (dorso-medial hypothalamus, een hersengebiedje dat belangrijk is voor thermoregulatie) zorgt voor een verhoging van de lichaamstemperatuur. Dit bewijst dat een lage leptine spiegel tijdens lijnen (vanwege minder calorische inname) zorgt voor een lage

lichaamstemperatuur en de prikkeling van bepaalde door leptine geprikkelde DMH neuronen weg valt. Leptine is een hormoon dat wordt afgegeven door vetcellen. Leptine wordt naar het brein getransporteerd en remt de voedselinname en bevordert calorieverbranding. Een van de manieren waarmee mensen/dieren calorieën kunnen verbranden is door verhoging van de lichaamstemperatuur. We hebben gezien dat leptine signalering in de DMH belangrijk is voor thermoregulatie, maar de neuronale projecties daarvoor zijn onbekend. Het is al bekend dat neuronen in de DMH projecteren naar verschillende hersengebieden in de hersenstam.

Doel/hypothese: De ontwikkeling van obesitas is een samenspel van verschillende factoren. Ons onderzoek is gericht op de connectie tussen obesitas en lichaamstemperatuur. Lichaamstemperatuur is een van de manieren waarmee dieren calorieën kunnen verbranden, maar binnen dit gebied is tot nu toe weinig onderzoek gedaan naar obesitas. In het huidige experiment focussen we op twee vragen: 1) de rol van een specifieke projectie van de DMH naar de hersenstam in thermogenese en 2) of leptine signalering in de DMH een belangrijk rol speelt in temperatuurverhoging via deze projecties.

Globale aanpak vraagstelling: In het huidige experiment worden de neuronale projecties tussen DMH en PAG en RPa onderzocht. PAG (periaqueductal grey) en RPa (Raphae Pallidus) zijn hersengebiedjes waarnaar de neuronen van DMH projecteren en liggen in de hersenstam. Met hulp van specifieke kunstmatige receptoren (aanwezig in een virus dat ingespoten wordt in het DMH) kunnen we specifieke neuronale projecties (DMH-RPa en DMH-PAG) activeren. Deze kunstmatige receptoren

worden DREADD genoemd (Engels: Designer receptors activated by Designer drugs) en ze kunnen geactiveerd worden door een specifiek ligand CNO (wordt ingespoten in de dieren). Om deze projectie specifiek te activeren, zullen we de activerend DREADD receptor in de DMH inspuiten en een ander virus CAV2Cre in het projectiegebied (PAG of RPa) inspuiten. Het CAV2Cre virus wordt opgenomen door de neuronale uitlopers en wordt vervoerd naar het cellichaam om de DREADD receptor tot expressie te brengen. Dus met deze techniek labelen we bepaalde neuronale projecties. Onze uitleesparameter is de lichaamstemperatuur. We willen weten of de activatie van een bepaalde projectie van de DMH de lichaamstemperatuur kan verhogen. Zo ja, dan is deze activatie afhankelijk van leptine signalering. Om dit te bestuderen gaan we een leptine antagonist in de DMH inspuiten en proberen de effecten van CNO te blokkeren. Omdat thermoregulatie alleen in een intact organisme bestudeerd kan worden, moeten we gebruik maken van proefdieren.

Titel studie: Initiële experimenten voor het opzetten van het Marmarou Traumatic Brain Injury model in Utrecht

DEC nummer: 2014.I.08.049

Initiële experimenten voor het opzetten van het Marmarou "Traumatic Brain Injury" model in Utrecht

Achtergrond: Als gevolg van een klap of stoot tegen het hoofd kan er traumatisch hersenletsel ontstaan. Afhankelijk van de kracht van de klap kunnen de hersenen in meer of mindere mate beschadigd worden en kunnen

patiënten allerlei neurologische afwijkingen vertonen. Wereldwijd ondervinden ongeveer 10 miljoen mensen de nadelige gevolgen van traumatisch hersenletsel. In de VS alleen al worden de kosten voor de medische zorg geschat op 56 miljard (!!) dollar per jaar. Traumatisch hersenletsel is geassocieerd met diffuse schade (= schade niet aanwijsbaar op één plek/verspreid in de hersenen) aan hersenweefsel wat heel lastig is op te sporen met conventionele MRI technieken. Het doel van de overkoepelende onderzoekslijn is de ontwikkeling van traumatisch hersenletsel in de tijd te volgen in een diervorm, m.b.v. geavanceerdere MRI technieken die structurele en functionele verbindingen visualiseren in de hersenen. Men denkt dat veranderingen in deze verbindingen representatief zijn voor de optredende diffuse schade. Deze veranderingen in verbindingen zullen worden gekoppeld aan onderliggende cellulaire en moleculaire veranderingen. Uiteindelijk kan zo de weg worden vrij gemaakt voor onderzoek aan eventuele succesvolle therapieën. Dit zal gebeuren in een diervorm dat representatief is voor zowel een milde als ernstige vorm van traumatisch hersenletsel omdat bij mensen is gebleken dat zelfs na een milde klap tegen het hoofd cognitieve veranderingen kunnen ontstaan later in het leven. Doel/hypothese: Het doel van de aanvraag is: 1) Het opzetten van een diervorm voor mild traumatisch hersenletsel. 2) Het karakteriseren van de progressie van een milde vorm van traumatisch hersenletsel met MRI, gedragsproeven en biomoleculaire/histologische technieken.

Globale aanpak vraagstelling: Er zal gebruik worden gemaakt van een diervorm voor traumatisch hersenlet-

sel waarbij een gewicht van 450 gram gecontroleerd valt op een stalen helm die tijdelijk vast zit op de schedel van een rat. Dit gewicht kan op een variabele hoogte worden losgelaten om zo de ernst van traumatisch hersenletsel te variëren. Door andere onderzoekers werden de gevolgen van de impact na een valhoogte van 1 meter gedefinieerd als een milde vorm van traumatisch hersenletsel. In deze aanvraag zal het model voor de milde vorm van traumatisch hersenletsel worden opgezet. Vervolgens zullen dieren met traumatisch hersenletsel meerdere malen worden bestudeerd met MRI om zo schade en/of herstel te karakteriseren. De focus ligt dan vooral op de visualisatie van verbindingen tussen specifieke hersengebieden. Subpopulaties van dieren zullen worden gedood op karakteristieke tijdstippen na inductie van traumatisch hersenletsel en MRI resultaten zullen worden gekoppeld aan een gedegen structureel en biomoleculair onderzoek om de moleculaire en cellulaire processen aan te wijzen die verantwoordelijk zijn voor schade en eventueel herstel. Tot slot zal worden onderzocht of de eerste MRI meting voorspellend kan zijn voor de het verdere verloop van traumatisch hersenletsel in de dieren. Een gedegen histologisch onderzoek is essentieel in deze aanvraag om veranderingen in MRI parameters te kunnen duiden. Dit kan niet in patiënten en maakt het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: Role of DMH in thermoregulation

DEC nummer: 2014.I.08.050

Hoe reguleert de dorsomedial hypothalamus(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 leptine 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 en voedsel inname in normale ratten en in een ratmodel van afvallen.

Net als de DMH, is de PVN of de periventriculaire nucleus ook een belangrijk hersengebied dat voedselinname en thermoregulatie reguleert. Met dit experiment willen we de rol van leptine signalering in voedselinname en lichaamstemperatuur in deze hersengebieden vergelijken. 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 signaleling in de DMH en de PVN belangrijk is voor thermoregulatie in ratten. Daarom spuiten we leptine perifeer (in de buikholte) en een leptine antagonist in de DMH/PVN. Als leptine signaleling 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 gen expressie en eiwit 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 verbrandt om warmte te creëren. 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 gereguleert. 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 geïmplant, zodat we continue de temperatuur en activiteit kunnen registreren zonder het dier te storen. Daarnaast worden ze geïnjecteerd in de DMH met een leptine antagonist virus. Dit virus blokkeert de effecten van lichaamseigen leptine. Een deel van de ratten gaat op een vet en suikerrijk dieet (vier week op het dieet en vier week zonder: model van afvallen), de rest blijft op het normale dieet. Tijdens de afvallen fase wanneer lichaamstemperatuur wordt gedaald (als gezien in vroegere experimenten), willen we leptine inspuiten in deze dieren. Dus als de DMG of de PVN belangrijk is voor de thermogene aspecten van leptine dan wordt er geen lichaamstemperatuurverhoging in dieren met de antagonist in de DMH of de PVN. 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: Unravelling impulsivity by optogenetically manipulating noradrenergic and dopaminergic neuronal circuitry

DEC nummer: 2014.I.08.051

Mechanismen in de hersenen die betrokken zijn bij impulsiviteit

Achtergrond: Impulsief gedrag, wat globaal omschreven wordt als handelen zonder na te denken, speelt een belangrijke rol bij een aantal psychiatrische aandoeningen, zoals ADHD, verslaving, manie en persoonlijkheidsstoornissen. Er wordt daarom verondersteld dat het tegengaan van impulsiviteit een belangrijke bijdrage kan leveren aan de behandeling van deze aandoeningen. Het huidige project beoogt de rol van dopamine, een belangrijke signaalstof in de hersenen, bij impulsiviteit op te helderen. Er is de afgelopen jaren veel bekend geworden over de rol van verschillende signaalstoffen in de hersenen, waaronder dopamine, bij impulsiviteit. Echter, wat tot op heden niet mogelijk was te onderzoeken, is welke verbindingen in de hersenen die gebruik maken van dopamine betrokken zijn bij impulsief gedrag. Dit laatste is nu mogelijk d.m.v. optogenetica, een techniek waarbij verbindingen van het ene hersengebied met het andere kunnen worden ge(active)erd met laserlicht. Er zijn verschillende varianten van optogenetische manipulaties mogelijk. In dit project zullen twee daarvan vergeleken worden m.b.t. hun effectiviteit bij het beïnvloeden van gedrag.

Doel/hypothese: 1) Het ophelderen van de rol van drie dopamine-bevattende verbindingen in de hersenen bij impulsiviteit. 2) Het onderzoeken van de effectiviteit van twee verschillende optogenetische methodes.

Globale aanpak vraagstelling: Ratten zullen worden getraind in een reactietaak, waarbij ze moeten reageren op een lichtsignaal om voedsel te verdienen. Als de dieren reageren voorafgaand aan de presentatie van het lichtsignaal ('voor hun beurt spreken'), wordt dit gezien als een maat voor impulsiviteit. Door middel optogenetische manipulaties zullen er drie dopamine-bevattende verbindingen in de hersenen worden gestimuleerd, namelijk van het ventraal tegmentaal gebied naar:

1. nucleus accumbens shell, 2. nucleus accumbens core, 3. prefrontale hersenschors. Door deze verbindingen kortdurend te activeren, zullen wij impulsief gedrag in de reactietaak proberen op te wekken.

Titel studie: Neurale substraten van sociaal spelgedrag 2

DEC nummer: 2014.I.08.052

Sociaal gedrag en mechanismen in de hersenen

Achtergrond: Er zijn een aantal gedragingen, die door mens en dier als prettig worden ervaren en die belangrijk zijn voor het voortbestaan van individu, groep of soort. De bekendste van deze zogenaamde natuurlijke beloners zijn eten, drinken, seks en sociaal gedrag. In vergelijking met eten en seks is er maar weinig bekend over hoe sociaal gedrag in de hersenen tot stand komt. Dit is opmerkelijk, aangezien sociaal gedrag verstoord is bij een groot aantal psychiatrische stoornissen, zoals ADHD, autisme, schizofrenie en depressie. Ons onderzoek richt zich op het begrijpen van de mechanismen in de hersenen die betrokken zijn bij sociaal speelgedrag van jonge ratten. Sociaal speelgedrag is zeer belonend en belangrijk voor de sociale

en cognitieve ontwikkeling van mens en dier. Verder is aangetoond dat een veelvuldig gebruikt medicijn (methylfenidaat/ritalin) voor de behandeling van ADHD, in jonge ratten spelgedrag verlaagd. Ook in mensen is gevonden dat sociaal gedrag wordt beïnvloedt door methylfenidaat. Doel/hypothese: Opheldering van de hersengebieden en signaalstoffen in de hersenen die betrokken zijn bij sociaal (speel)gedrag is van belang voor het begrijpen van hoe de hersenen 1. sociale stimuli verwerken, 2. de belonende en motivationele aspecten van sociaal gedrag tot stand brengen. 3. zich ontwikkelen op sociaal gebied in de kindertijd en adolescentie. Daarnaast willen we ophelderen of het onderdrukkende effect op sociaal spelgedrag van methylfenidaat een therapeutisch of bijeffect is.

Globale aanpak vraagstelling: Er zal onderzocht worden in hoeverre het beïnvloeden van signaaloverdracht in bepaalde hersengebieden sociaal spelgedrag bij ratten beïnvloedt. Gezien de complexiteit van de hersenen en van sociaal gedrag kan dit onderzoek alleen met intacte dieren gebeuren. Er zal worden geprobeerd het spelgedrag van ratten te beïnvloeden door de functie van bepaalde hersengebieden d.m.v. geneesmiddelen te veranderen. Dieren worden voorbehandeld met het medicijn voor de behandeling van ADHD (methylfenidaat/ritalin). Vervolgens wordt in specifieke hersengebieden, waarvan we hebben aangetoond dat deze betrokken zijn bij sociaal spelgedrag en het effect van methylfenidaat hierop, een stof waarvan we hebben aangetoond dat het effect van methylfenidaat tegengaat ingebracht. Hierop volgend zal naar het spelgedrag van de ratten gekeken worden.

Titel studie: Het in kaart brengen van functionele neurale circuits bij eetgedrag

DEC nummer: 2014.I.08.053

Het in kaart brengen van hersenverbindingen die ten grondslag liggen aan eetgedrag

Achtergrond: Door het beschikbaar komen van nieuwe gemodificeerde virussen, is het mogelijk geworden om op cel niveau vast te stellen welke neuronen (hersencellen) in verbinding staan met andere neuronen verderop in het brein. Dit is een eerste stap naar het begrip welke precieze neuronale activiteit op cel niveau onderliggend is aan gedrag. We leren hiervan hoe neuronen gedrag sturen. In eerste instantie richten we ons op eetgedrag omdat dit een natuurlijk gedrag is dat dieren vertonen. Zodra we eetgedrag beter begrijpen op cel niveau heeft dat niet alleen implicaties voor het vinden van nieuwe behandelstrategieën voor eetstoornissen, maar zullen we ook begrijpen hoe meer complex gedrag bestudeerd moet worden.

Doel/hypothese: Welke neuronen in de hypothalamus (hersengebied belangrijk bij eetgedrag) zijn verbonden met neuronen in het beloningssysteem. Deze neuronen spelen een rol in hoe honger ertoe leidt dat we meer gemotiveerd zijn te gaan eten.

Globale aanpak vraagstelling: We injecteren dieren in de hersenen op plaats A en plaats B. Hiermee labelen we neuronen die van A naar B projecteren. Vervolgens injecteren we een ander gemodificeerd virus in A, wat ertoe leidt dat alle neuronen die projecteren naar neuronen die van A naar B projecteren, gelabeld worden. Wanneer we dit weten, kunnen we vervolgens de vraag stellen hoe

die precies geïdentificeerde neuronen gedrag sturen. Dit onderzoek kan alleen in proefdieren, omdat we virussen nodig hebben die neuronale circuits labelen tijdens het leven van een rat of muis. Het is technisch onmogelijk dit in post-mortem niet viraal gemodificeerd hersenweefsel te doen. Het ongerief voor de dieren is matig. Ze krijgen 2 keer een operatie en worden voor het opofferen eenmaal geïnjecteerd.

Titel studie: Eetgedrag en voedselkeuze

DEC nummer: 2014.I.08.054

Eetgedrag en voedselkeuze

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 calorie-waarde 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 of activeren van activiteit tussen verschillende hersengebieden ervoor zorgt dat dieren meer/minder gaan eten en of de voedselkeuze veranderd.

Globale aanpak vraagstelling: Ratten zullen worden getest op de omvang en samenstelling van hun voedselinname. 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 een bepaald voer en de hoeveelheid geconsumeerd voer bepalen.

Titel studie: Dopaminergic modulation of psychiatry-related behaviours and physiology

DEC nummer: 2014.I.08.055

Rol van dopamine in de regulatie van psychiatrische symptomen en neurofysiologie

Achtergrond: Het is bekend dat dopamine een belangrijke rol speelt in de regulatie van verschillende typen gedrag, zoals het vermogen de aandacht ergens op te richten. Verstoringen in het dopaminesysteem worden gerelateerd aan psychiatrische stoornissen. Een huidige hypothese is dat er bij zowel psychose als ADHD sprake is van een overactief dopaminesysteem. Het is echter onduidelijk hoe deze 'hyperdopaminerge' staat ontstaat. Een mogelijkheid hiervoor is een verhoogde activiteit van de hersencellen (neuronen) in het midbrein die dopamine

produceren en afgeven door het gehele brein. Tot op heden was het echter niet mogelijk om een dergelijke staat te simuleren. Met een nieuwe techniek, de zogenaamde DREADD technologie, kunnen we direct en omkeerbaar de activiteit van deze hersencellen verhogen en het effect op verschillende typen gedrag bestuderen. Deze techniek werkt goed in onze handen, en we willen nu onderzoeken of we psychiatrische symptomen kunnen modelleren door aan de hand van DREADD dopamine-neuronen te stimuleren en tegelijkertijd hersenactiviteit te meten.

Doel/hypothese: In dit onderzoek willen wij aan de hand van een nieuwe techniek (DREADD) selectief de activiteit van dopamine-neuronen in het brein moduleren en onderzoeken wat het effect hiervan is op gedrag en hersenactiviteit dat verstoord is in psychiatrische aandoeningen.

Globale aanpak vraagstelling: Om de DREADD-techniek toe te passen, krijgen de ratten een injectie met een niet-pathogeen virus in een selectief hersengebied. We gebruiken een rattenstam die genetisch gemodificeerd is en ons in staat stelt om specifiek dopamine neuronen te manipuleren. De virusinjectie zorgt ervoor dat dopamineneuronen gevoelig worden voor een bepaald farmacon dat van nature niet in het lichaam voorkomt. Wanneer we deze stof toedienen via een simpele injectie, worden de dopamineneuronen gedurende een aantal uur extra actief. Dit stelt ons in staat om te testen hoe gedrag verandert wanneer dopamineneuronen hyperactief zijn. In dit onderzoek gebruiken we een test die gevalideerd is in zowel mensen als ratten, de prepulse inhibitie test, waarvan bekend is dat mensen met schizofrenie hier

afwijkend op scoren. Met de DREADD-techniek is het voor eerst mogelijk om op een directe, maar relatief niet-invasieve manier dopamineneuronen te stimuleren, en te onderzoeken wat het effect hiervan is op gedrag. Daarnaast zullen wij met behulp van meetelektroden hersenactiviteit meten tijdens de gedragstaak. Dit stelt ons in staat manipulaties aan het dopaminerge systeem te relateren aan hersenactiviteit. Het is momenteel niet mogelijk om deze techniek op mensen toe te passen. Aangezien het gedrag dat we willen onderzoeken ook in ratten te testen is, willen we ratten gebruiken voor deze studie.

Titel studie: Effects of differential expression of GR and MR in the amygdala and hippocampus

DEC nummer: 2014.I.08.056

De rol van de GR/MR ratio in stress metaplasticiteit in de amygdala en hippocampus

Achtergrond: Stress is een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen als depressie, angststoornissen en het posttraumatische stresssyndroom. Onze groep is geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle situaties en de daarmee gepaarde hormonale veranderingen de communicatie tussen hersencellen beïnvloeden. We verwachten op termijn met ons onderzoek een bijdrage te kunnen 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 geheugenpro-

cessen bij emotioneel stressvolle gebeurtenissen. Deze processen spelen zich af in specifieke hersengebieden, de amygdala en de hippocampus.

Globale aanpak vraagstelling: Het is bekend dat de blootstelling van hersencellen aan het stresshormoon corticosteron via receptoren (zoals de mineralocorticoid receptor, MR en de glucocorticoid receptor, GR) tot een veranderde communicatie tussen cellen kan leiden. Recentelijk hebben we in een hersengebied wat geassocieerd is met het verwerken van emoties, de basolaterale amygdala (BLA), gemeten dat een tweede blootstelling aan corticosteron tot een tegenovergestelde verandering leidt ten opzichte van de eerste blootstelling. Dit fenomeen heet “stress metaplasticiteit” en werd in een ander hersengebied, betrokken bij het geheugen, het CA1 gebied van de hippocampus, niet gevonden. We vermoeden dat het verschil in stress metaplasticiteit tussen BLA en CA1 te maken heeft met de hoeveelheid GR t.o.v. de hoeveelheid MR. Om dit te onderzoeken maken we gebruik van genetisch gemodificeerde muizen die of geen MR hebben of waarbij de MR en GR in veranderde aantallen aanwezig zijn. Met deze experimenten hopen we de achterliggende mechanismen van stress metaplasticiteit in kaart te brengen. De experimenten worden uitgevoerd in vers gesneden hersenplakjes van muizen met een elektrofysiologische techniek. Het meten van de elektrische activiteit in hersenplakjes 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 de embryonale pe-

riode en daardoor is het gebruik van gekweekte (primaire) cellen en cellijnen niet mogelijk. Verder zijn er geen goede vervangende methoden aanwezig.

Titel studie: Het effect van de mineralocorticoid receptor en early life stress op de plastische ontwikkeling van de prefrontale cortex en hippocampus

DEC nummer: 2014.I.08.057

Het effect van stress en genetische gevoeligheid tijdens het vroege leven op de ontwikkeling van hersenfunctie

Achtergrond: Negatieve stressvolle gebeurtenissen gedurende de vroege (postnatale) periode na de geboorte brengen een toegenomen risico op neurologische en psychiatrische aandoeningen op volwassen leeftijd met zich mee. Gedragsstudies in knaagdieren laten zien dat in de eerste levensweek moederzorg de belangrijkste omgevingsfactor is die de stressgevoeligheid en de cognitieve prestaties als volwassen dier beïnvloedt. Ook zijn er studies die laten zien dat genetische variatie in een van de stress hormoonreceptoren (mineralocorticoid receptor, MR) beschermend kan werken tegen de effecten van stress waardoor de effecten van vroege stress tegen zouden kunnen worden gegaan. Het onderliggende mechanisme in het brein maar ook hoe dit zich ontwikkelt over tijd is echter niet bekend.

Doel/hypothese: In dit project bestuderen we in proefdieren (muizen) of een stress situatie tijdens de eerste levensweek (early life stress, ELS) permanente gevolgen heeft voor de functie van de hersenen. We doen dit aan de hand van een diermodel waarin aan de hand van ge-

netische manipulatie de expressie van de MR laag, hoog of gemiddeld in het brein aanwezig is. Ook bestuderen we over tijd hoe deze veranderingen tot stand komen door de parameters op kritieke momenten tijdens ontwikkeling te bestuderen (o.a. puberteit, volwassenheid etc.).

Globale aanpak vraagstelling: De ELS situatie bestaat uit het verminderen van nestmateriaal en bedding waardoor de zorg van de moeder voor de pups fragmentarisch wordt gedurende een periode van 7 dagen na de geboorte. Met dit diermodel simuleren we een situatie vergelijkbaar met een humane waarin kinderen vroeg in het leven chronische stress ondervinden in aanwezigheid van de moeder. Enerzijds bestuderen we directe veranderingen door direct na de stressor te kijken, anderzijds de lange termijn effecten van de prefrontale cortex in het brein (belangrijk voor cognitie en geheugen). Hierdoor kunnen we ons begrip vergroten van de ontstaansmechanismen van neuro psychiatrische aandoeningen die mogelijk nieuwe therapeutische toepassing kunnen hebben. De complexiteit van de experimenten in combinatie met het ontwikkelingsaspect maakt dat deze experimenten niet in andere onderzoek systemen dan proefdieren te onderzoeken zijn. Gezien het maatschappelijke en wetenschappelijke belang van deze experimenten en het geringe/matige ongerief dat de dieren ondervinden vinden we deze proeven ethisch aanvaardbaar.

Titel studie: Pre- en post-synaptische effecten van maternale deprivatie op glutamaat-transmissie in de hippocampus

DEC nummer: 2014.I.08.058

Pre- en post-synaptische effecten van stress in het vroege leven op glutamaterge transmissie in de hersenen

Achtergrond: Stress op jonge leeftijd is een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen zoals depressie, angststoornissen en posttraumatische stress syndroom. Eerder onderzoek wijst uit dat stress op jonge leeftijd blijvende veranderingen veroorzaakt in de communicatie tussen hersencellen. Het precieze mechanisme waarmee dit gebeurt, is nog grotendeels onbekend. Wel is duidelijk dat de neurotransmitter glutamaat hierbij een grote rol speelt. Wij zijn geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle ervaringen op jonge leeftijd de glutamaterge communicatie tussen hersencellen beïnvloedt. Ook willen wij onderzoeken hoe deze effecten zich ontwikkelen vanaf de stressvolle ervaring tot aan volwassenheid en wat de verschillen tussen man en vrouw zijn. Met deze kennis kan het mechanisme worden begrepen waarop stress op jonge leeftijd het risico op psychiatrische aandoeningen in het latere leven kan vergroten. Deze kennis kan vervolgens gebruikt worden om therapeutische interventies te ontwikkelen om psychiatrische aandoeningen te voorkomen of te behandelen.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te bepalen hoe stressvolle ervaringen op jonge leeftijd de signaal-doorgifte van glutamaat in de hersenen beïnvloedt.

Doordat we op verschillende leeftijden metingen zullen uitvoeren, kan het exacte verloop van deze verande-

ringen worden vastgesteld. Deze kennis is nodig om te begrijpen hoe stress op jonge leeftijd het risico op psychiatrische aandoeningen vergroot.

Globale aanpak vraagstelling: De dieren (ratten) zullen op de derde dag na de geboorte voor 24 uur van de moeder worden gescheiden. Dit is voor zowel de moederrat als de pups een zeer stressvolle ervaring. Op verschillende kritieke punten in de ontwikkeling (o.a. adolescentie) van de rat wordt bekeken wat het effect van deze stressvolle ervaring is op de signalering van glutamaat in de hersenen. Deze handelingen zijn in mensen niet op deze manier mogelijk. Nieuwe inzichten naar aanleiding van deze studie kunnen op termijn mogelijk therapeutische toepassingen hebben.

Titel studie: IL10-4 als behandelingsmethode van chronische pijn

DEC nummer: 2014.I.08.059

IL4-10 synerkine als mogelijke nieuwe behandelingsmethode van chronische pijn

Achtergrond: Chronische pijn is een enorm klinisch probleem. Meer dan 20% van de totale bevolking heeft last van chronische pijn. Chronische pijn is moeilijk te behandelen en de onderliggende mechanismen zijn slechts gedeeltelijk bekend. Wij hebben een nieuwe behandelingsmethode ontwikkeld, wat uit de eerste onderzoeksresultaten zeer veel belovend lijkt te zijn in het tijdelijk remmen van een specifiek soort chronische pijn: chronische ontstekingspijn.

Doel/hypothese: In dit onderzoek willen wij verder onderzoeken:

1. Helpt het middel synerkine ook tegen andere vormen van chronische pijn.
2. Welke cellen in het pijnsysteem wordt behandeld door het middel synerkine
3. Kunnen we de chronische ontstekingspijn compleet doen verdwijnen door het middel langer te geven en moet dat dan a) lokaal in het ruggenmerg of b) werkt systemische toediening ook zodat het middel over het hele lichaam verspreid wordt?

Globale aanpak vraagstelling: Wij zullen verschillende muizen modellen gebruiken voor verschillende soorten chronische pijn. Daarnaast zullen wij verschillende muizen gebruiken die een bepaald eiwit (nodig voor de effecten van het middel) missen om te kunnen onderzoeken welke cellen nodig zijn voor de effecten van het middel synerkine. Pijn is geregeld op verschillende niveau's: daar waar de prikkels worden opgepikt door zenuwcellen, op het niveau van het ruggenmerg (waar speciale pijn-cellen geactiveerd worden) en op het niveau van de hersenen die de informatie verwerken. We kunnen deze vraag dan ook niet anders dan met dierproeven beantwoorden.

Titel studie: Research into sexual side effects of the new antidepressant vortioxetine in female Wistar rats

DEC nummer: 2014.I.08.060

Een studie in ratten naar de mogelijke seksuele bijwerkingen van het nieuwe antidepressivum vortioxetine

Achtergrond: Vortioxetine is een nieuw antidepressivum dat in clinical trials zeer goed lijkt te werken. Dit antidepressivum heeft een gecompliceerde werking: het blok-

keert de heropname van de neurotransmitter serotonine (dit zorgt voor de antidepressieve werking, maar ook voor de seksuele bijwerkingen) daarnaast stimuleert het een groot aantal verschillende serotonine receptoren (verschillende plekken in het brein waar serotonine kan worden geactiveerd). Activatie van sommige van deze serotonine receptoren heeft een positief effect op seksuele uitkomsten. De hoop is nu dat de anti- en proseksuele werkingen van vortioxetine elkaar in evenwicht zullen houden.

Doel/hypothese:

- 1) We willen onderzoeken of het nieuwe antidepressivum vortioxetine seksuele bijwerkingen heeft.
- 2) Onderzoeken of stimulatie van bepaalde receptoren (die ook door vortioxetine worden geactiveerd) leidt tot positieve dan wel negatieve effecten op het seksuele gedrag van ratten (in mannen en vrouwen).

Globale aanpak vraagstelling: Verschillende doseringen van vortioxetine zullen worden getest op het seksuele gedrag van mannetjes en vrouwtjes ratten. Om meer inzicht te krijgen in het mechanisme waarom vortioxetine weinig seksuele bijwerkingen heeft (dit is de verwachting), zullen stoffen worden getest die specifiek bepaalde serotonine receptoren activeren die ook door vortioxetine worden geactiveerd. Seksueel gedrag kan niet in geïsoleerde cellen in kweek worden onderzocht. We gaan bovendien meten of chronische toediening van de verschillende stoffen leidt tot moleculaire veranderingen in de hersenen. De ratten zullen daarom aan het eind van het experiment worden gedood om hersenen te kunnen bestuderen.

Titel studie: Effects of natural iron-deficiency vs. an optimal iron injection in pre-weaning piglets on spatial discrimination performance in a holeboard task

DEC nummer: 2014.I.08.061

Effecten van natuurlijk ijzertekort t.o.v. een optimale ijzerinjectie in biggen vóór speenleeftijd op spatiëel leervermogen in de holeboard taak voor varkens

Achtergrond: IJzer deficiëntie is een probleem in de mens in ontwikkelingslanden, van belang in het kader van voedselveiligheid en kwaliteit in Westerse landen, en ook van belang voor het ontwikkelen van voer voor biggen. Effecten van ijzer deficiëntie op later cognitief functioneren zijn nog nauwelijks met gecontroleerde experimenten bestudeerd. Dit kan juist heel goed in biggen, omdat pasgeboren biggen veel op pasgeboren humane baby's lijken qua hersenontwikkeling, voeding, en grootte. Dat maakt dat de resultaten van de biggen gemakkelijker dan andere diersoorten naar de mens vertaald kunnen worden. Daarnaast is het ook van belang om de effecten van ijzer deficiëntie op leren en geheugen vast te stellen voor het welzijn van biggen in boerderijomstandigheden, waar ijzer deficiëntie natuurlijk voorkomt. Hiertegen krijgen zij onder standaard omstandigheden een ijzer injectie. In een eerdere studie waarbij kunstmelk met weinig of normaal ijzergehalte gegeven was tot 4 weken leeftijd, vonden wij dat biggen met een ijzertekort op jonge leeftijd permanent slechter groeiden en slechtere geheugenprestatie hadden op latere leeftijd. In deze studie willen wij de effecten van een natuurlijk ijzertekort (geen ijzerinjectie) t.o.v. een optimale ijzerinjectie (2x 40 mg / kg geboortegewicht)

onderzoeken op cognitieve prestaties in een ruimtelijke geheugen taak voor varkens, het zogenaamde holeboard. In deze taak moeten zij vier verborgen beloningen (niet te vinden op basis van reuk en zicht) vinden op basis van ruimtelijk geheugen.

Doel/hypothese: Wij verwachten dat de biggen met een natuurlijk ijzertekort tot speenleeftijd slechter zullen presteren in de holeboard taak dan de controle groep; daarbij zullen zij langer over de taak doen en lagere geheugen scores behalen.

Globale aanpak vraagstelling: Twaalf paartjes van (m/v) biggen zullen geselecteerd worden voor deze studie direct na de geboorte. Alle dieren zullen van gemiddeld toomgewicht zijn. Twee 'adoptie zeugen' zullen worden geselecteerd, waarnaar de biggen voor de studie zullen worden verplaatst 2 dagen na de geboorte - in ruil voor 2 van hun eigen biggen. Bij deze zeugen zal niet worden bijgevoerd met biggenvoer, zodat de dieren die geen ijzerinjectie ontvangen geen extra ijzer zullen binnenkrijgen. Op dag 3 en 10 krijgen de dieren een zoutinjectie of een ijzer injectie van 40 mg/kg geboortegewicht. Alle dieren blijven bij de adoptie zeugen tot speenleeftijd, maar zullen tussen deze 2 zeugen worden gewisseld (elke 4 dagen) om het zeug-effect weg te halen. Hierna zullen zij op 4 weken leeftijd naar de onderzoeksstal van de Tolakker worden gebracht. Daar worden zij gehabitudeerd en getraind tot ongeveer 7 weken leeftijd, waarna wij de test zullen uitvoeren in het holeboard voor varkens om hun leervermogen en geheugen prestaties te bepalen. Op 0, 2, 4, 6 en 12 weken leeftijd nemen wij bloed bij de dieren af voor ijzerbepa-

ling in het bloed. Op 12 weken leeftijd vindt euthanasie plaats en worden de breintjes verzameld voor histologisch onderzoek.

Titel studie: Are low birth weight piglets more motivated to gain a food reward than their normal birth weight siblings?

DEC nummer: 2014.I.08.062

Studie naar een voedingsmotivatietest waarin biggen met een laag geboortegewicht worden vergeleken met normaal geboortegewicht biggen

Achtergrond: Bij voorgaande studies is gebleken dat biggen met laag geboortegewicht, tegen verwachting in, tijdens een leertaak beter presteerden dan biggen met normaal geboortegewicht. Eén van de mogelijke verklaringen voor dit resultaat is dat biggen met een laag geboortegewicht gemotiveerder zijn om voedselbeloningen te verkrijgen dan normaal geboortegewicht biggen. In deze studie gebruiken wij een motivatie test waarbij de biggen steeds vaker aan een draaiwiel moeten draaien met hun snuit om dezelfde beloning te verkrijgen. Hoe meer draaiingen uitgevoerd worden in totaal, hoe hoger de motivatie. Daarnaast willen wij een runway bouwen waarin de dieren van het startpunt naar de beloning moeten lopen, waarvan de duur gebruikt kan worden als voedingsmotivatie maat. De uitkomsten van deze twee tests zullen wij vergelijken tussen de laag en normaal geboortegewicht biggen.

Doel/hypothese: Wij verwachten dat de laag geboortegewicht biggen een hogere voedingsmotivatie hebben, en dus meer draaiingen zullen uitvoeren in de draaiwiel-taak,

en sneller naar hun beloning zullen gaan in de runway test. Globale aanpak vraagstelling: Wij zullen tien laag geboortegewicht en hun tien gemiddeld gewicht toomgenoten selecteren bij de geboorte. Met speenleeftijd worden deze dieren verhuisd naar de onderzoeksstal op de Tolakker. Na habituatie aan mensen en het trainen op de tests, voeren wij de motivatie tests met ze uit. Proefdieren zijn noodzakelijk aangezien wij de effecten van geboortegewicht op voermotivatie in varkens willen onderzoeken, door de uitkomst van eerdere experimenten waarbij wij hiernaar gekeken hebben. Dit kan alleen in levende dieren.

Titel studie: De neurobiologie van sociale motivatie 2

DEC nummer: 2014.I.08.063

Hoe komt de motivatie voor sociale beloning tot stand in de hersenen?

Achtergrond: Er zijn een aantal gedragingen, die door mens en dier als prettig worden ervaren en die belangrijk zijn voor het voortbestaan van individu, groep of soort. De bekendste van deze zogenaamde natuurlijke beloners zijn eten, drinken, seks en sociaal gedrag. In vergelijking met eten en seks is er maar weinig bekend over hoe sociaal gedrag in de hersenen tot stand komt. Dit is opmerkelijk, aangezien sociaal gedrag verstoord is bij een groot aantal psychiatrische stoornissen, zoals ADHD, DBDs, autisme, schizofrenie. Ons onderzoek richt zich op het begrijpen van de mechanismen in de hersenen die betrokken zijn bij sociaal speelgedrag van jonge ratten. Sociaal speelgedrag is zeer belonend en belangrijk voor de sociale en cognitieve ontwikkeling van mens en dier.

Doel/hypothese: Dit onderzoek wil ophelderen via welke hersensystemen motivatie voor sociaal speelgedrag tot stand komt.

Globale aanpak vraagstelling: Bij dit onderzoek zal bekeken worden hoe sociaal speelgedrag bij ratten te beïnvloeden is met geneesmiddelen. De dieren zullen worden getraind in een taak waarbij ze op een pedaaltje moeten drukken om de mogelijkheid te krijgen om te spelen met een soortgenoot. Het aantal keer dat een rat bereid is om op een pedaal te drukken voor een sociaal spel wordt gebruikt als een maat voor sociale motivatie. Door de activiteit van een aantal signaalstoffen, zoals GABA, dopamine, opioïden en cannabinoïden in de hersenen te beïnvloeden, proberen we te achterhalen welke mechanismen in de hersenen betrokken zijn bij de totstandkoming van sociale motivatie.

Vergadering 10 september 2014

Titel studie: Rol van cannabinoid (CB) 1 receptoren bij Acquisitie en Extinctie van angst

DEC nummer: 2014.I.09.064

Rol van het Cannabinoïde systeem in het brein bij acquisitie (aanleren) en extinctie (afleren) van angst

Achtergrond: Het Cannabinoïde systeem (genoemd naar de stof Cannabis, die via dit systeem in het brein zijn werking heeft) heeft in ieder geval 2 verschillende receptoren (CB1 en CB2). Een receptor is een eiwit op een hersencel, welke geactiveerd of gedeactiveerd wordt als er een specifiek/passend medicijn of lichaamseigen stof op de receptor aangrijpt. In eerder onderzoek is aangetoond dat de CB1 receptor is betrokken bij het verwerken van angst, maar er is nog weinig bekend over de manier waarop dit Cannabinoïde systeem is betrokken bij deze angst- processen. Dit onderzoek wordt gedaan in samenwerking met een humane onderzoeksgroep, zodat gedurende het onderzoek heel direct studieresultaten van humaan en dieronderzoek gekoppeld kunnen worden. Dit onderzoek richt zich op de functie/ rol van de CB1 receptor in de acquisitie en extinctie van angst. hiertoe testen we specifieke drugs die de CB1 receptor inactiveren of juist activeren. We testen deze stoffen in een startle procedure. Een startle procedure is een test waarin de persoon of het dier wordt blootgesteld aan een plotseling hard geluid. De schrikreactie (=startle) wordt gemeten (bij mensen middels elektroden rond de ogen, ogen trekken samen tijdens een startle, en bij ratten door de beweging van de vloerplaat

te meten, hier wordt beweging (reactie) van het hele lichaam gemeten. Kennis van de mechanismen in het brein tijdens verwerken van angst, zal bijdragen aan een betere therapie voor angst en stress gerelateerde aandoeningen als PTSD, psychosen en fobieën.

Doel/hypothese: Uitzoeken hoe de CB1 receptor angstprocessen beïnvloedt: heeft de CB1 receptor een activerende of inactiverende rol? En wat is het effect op aanleren of juist afleren van angst?

Globale aanpak vraagstelling: We werken nauw samen met een humane onderzoeksgroep. Eén van de beperkingen van het humane onderzoek is het gebruik van experimentele medicijnen. Met deze experimentele medicijnen kan specifiek naar de CB1 receptorwerking gekeken worden door de receptor te activeren of te inactiveren. We beginnen met het verder optimaliseren van de acquisitie-extinctie (aanleren-afleren) procedure, zodat de huidige procedure voor dieren (ratten) zoveel mogelijk wordt gelijkgetrokken met de humane startle-test procedure. De dieren worden tijdens de 50 minuten acquisitietraining (aanleren van angst) geleerd dat een lampje kan betekenen dat een voetschok volgt (0.6mA, 50 msec). Voor deze training krijgen dieren (experimentele) medicijnen toegediend, zodat we de invloed hiervan op het angst-leer proces kunnen vaststellen. De volgende dag worden de dieren getest. Ze krijgen dan in dezelfde box korte harde geluiden te horen, welke een schrikreflex veroorzaken. Deze reflex (startle-beweging) wordt door de computer geregistreerd. Een deel van de geluiden gaat gepaard met een lichtje; dieren die hebben geleerd dat dit een schok kan opleveren zullen een sterkere startle beweging laten zien bij het geluid dat is gekoppeld aan

een lampje. Het verschil tussen de reactie op een hard geluid met en een hard geluid zonder lampje noemen we de Angst-Potentiatie. De invloed van de medicijnen tijdens het aanleren van de procedure, een dag eerder, zijn met deze test meetbaar. Eén week na de acquisitie worden de dieren nogmaals getraind met een lampje en voetschok. Dit om ervoor te zorgen dat dieren die door het medicijn de licht-schok koppeling slecht of niet hebben geleerd als nog een goede angst-potentiatie aanleren. Een week later wordt de extinctie training gedaan, ook onder invloed van de CB1-medicijnen. Tijdens deze training krijgt de helft van de dieren gedurende 40 minuten, 30 x een lampje zonder schok. Hier leren ze dat lampje niet gevaarlijk is. De controle groep gaat wel in de opstelling maar krijgt helemaal geen stimuli (geen, lampje geen schok) aangeboden. De dag na de training wordt weer de angst-potentiatie getest. Nu om te controleren of de Extinctie (uitdoving) van de Angst-potentiatie heeft plaatsgevonden onder invloed van de medicijnen.

Titel studie: The influence of n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio in different genetic mouse models with behavioral deficits in the autism spectrum disorder domain

DEC nummer: 2014.I.09.065

Is er een correlatie tussen de ratio van omega-6/omega-3 meervoudig onverzadigde vetzuren en het autistisch gedrag in genetisch gemodificeerde muizen?

Achtergrond: Recente studies hebben aangetoond dat er een exponentiele 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 lopend met de toename in autisme prevalentie. Dit is een indicatie dat voeding een belangrijke factor is in de hersenontwikkeling. Meervoudig onverzadigde vetzuren staan beter bekend als omega-3 en omega-6. De balans tussen omega-6 en omega-3 ($n-6/n-3$) is hierbij het belangrijkste. Het dieet is in de afgelopen 100 jaar sterk veranderd. Niet alleen door de opkomst van de industrie, maar ook door de ontdekking dat cholesterol slecht is voor het hart. Cholesterol werd daardoor vervangen door plantaardige (omega-6) vetten en de kans op hartziekten zou hierdoor afnemen. Door de introductie van deze plantaardige vetten wordt dit echter steeds meer gebruikt in de voedingsindustrie. Het gevolg hiervan is dat er steeds meer omega-6 wordt ingenomen en de balans $n-6/n-3$ is verstoord; er ontstaat een groot tekort aan omega-3 vetzuren. Door de huidige levensstijl van kant-en-klaar maaltijden, fastfood en minder verse producten wordt deze balans nog verder verstoord. Het is bekend dat een tekort in omega-3 in muizen gedrags- en ontwikkelingsproblemen kan veroorzaken. Naast de concentraties die ontstaan door inname van voeding, kan een tekort aan omega-3 ook mogelijk veroorzaakt worden door een kapot gen in het lichaam. Er zijn een aantal genen gevonden die gerelateerd zijn aan autisme en van deze genen zijn er ook muismodellen aanwezig. We hopen dat deze muismodellen meer informatie kunnen geven over

de waarde en eventuele invloed van meervoudig onverzadigde vetzuren op het autisme gerelateerde gedrag van deze muizen.

Doel/hypothese: Door het afnemen van bloed bij muizen kunnen we de omega-6 en omega-3 concentratie meten in verschillende muizen met een genetische mutatie (een niet functionerend gen). We nemen bloed af op de leeftijd van 4, 6, 8, en 10 weken om zo te zien hoe deze concentraties zich ontwikkelen gedurende de ontwikkeling.

Globale aanpak vraagstelling: Het bloed van muizen zal getest worden op de leeftijden van 4, 6, 8 en 10 weken. Deze leeftijden zijn gekozen omdat ze de belangrijke ontwikkelingsstadia van een muis bedekken (op 10 weken zijn ze volwassen). Daarnaast zijn er gedragsdata verzameld rondom die leeftijden die het mogelijk maakt om een relatie tussen deze concentraties en het gedrag te analyseren. Het gebruik van proefdieren (muizen) is hier noodzakelijk, aangezien bloedafnames nog niet mogelijk zijn via een andere weg (computermodel, cellen). Tevens geeft bloedafname in het proefdier ook de actuele status van de vetzuurconcentraties in het lichaam weergeeft.

Titel studie: The effect of n-6/n-3 PUFA ratio on the behavior and brain development of Cntnap2 mice and its different important developmental time points

DEC nummer: 2014.I.09.066

Het effect van n-6/n-3 ratio op gedrag van muizen met een deletie van het Cntnap2 gen gedurende verschillende belangrijke ontwikkelingsstadia

Achtergrond: Recente studies hebben aangetoond dat er een exponentiele 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 lopend met de toename in autisme prevalentie. Dit is een indicatie dat voeding een belangrijke factor is in de hersenontwikkeling. Meervoudig onverzadigde vetzuren staan beter bekend als omega-3 en omega-6. De balans tussen omega-6 en omega-3 (n-6/n-3) is hierbij het belangrijkste. Het dieet is in de afgelopen 100 jaar sterk veranderd. Niet alleen door de opkomst van de industrie, maar ook door de ontdekking dat cholesterol slecht is voor het hart. Cholesterol werd daardoor vervangen door plantaardige (omega-6) vetten en de kans op hartziekten zou hierdoor afnemen. Door de introductie van deze plantaardige vetten wordt dit echter steeds meer gebruikt in de voedingsindustrie. Het gevolg hiervan is dat er steeds meer omega-6 wordt ingenomen en de balans n-6/n-3 is verstoord; er ontstaat een groot

tekort aan omega-3 vetzuren. Door de huidige levensstijl van kant-en-klaar maaltijden, fastfood en minder verse producten wordt deze balans nog verder verstoord. Het veranderen van het dieet van muizen, door toevoeging van omega-3, zal hopelijk meer informatie kunnen geven over de invloed van meervoudig onverzadigde vetzuren op het autisme gerelateerde gedrag van deze gemuteerde muizen.

Doel/hypothese: De invloed van deze meervoudig onverzadigde vetzuren op het gedrag wordt hier onderzocht. In een testbatterij worden de muizen getest op verschillende leeftijden (4, 6, 8, 10 en 12 weken oud). Er is een verandering opgetreden in het dieet door toevoeging van extra omega-3. Door het gebruik van zowel de normale als gemuteerde muizen, met verschillend gedrag veroorzaakt door deze mutatie, kunnen de eventuele veranderingen van vetzuur concentraties in het dieet gerelateerd worden aan de veranderingen in dit gedrag relevant voor autisme. Gedurende deze experimenten wordt bloed afgenomen om te zien hoe de ratio van omega-6/omega-3 in het lichaam is. Er wordt gestart met 1 behandeling met omega-3 en controle dieet: Het dieet (suppletie of controle) wordt gegeven in de moeder, voordat de moeder zwanger is, tot het einde van het experiment in de nakomelingen. Als hierbij blijkt dat dit een effect heeft op het gedrag van deze muizen, zal nader bepaald moeten worden welke periode in de ontwikkeling de grootste invloed heeft op deze verandering. Hiervoor worden 2 verschillende behandelingen gestart: 1) Het dieet (controle en suppletie) wordt omgedraaid op P0, de dag van de geboorte. Dus de dieren die tijdens de zwangerschap controle dieet kregen, krijgen vanaf de

geboorte het suppletie dieet en andersom) 2) Het dieet wordt omgedraaid op P21, de dag van het spenen. Dus de dieren die suppletie kregen tot die tijd, krijgen nu controle dieet. Als blijkt in welke periode het gedrag het meest gevoelig is voor suppletie zal er gekeken worden naar de ontwikkeling van myeline in de hersenen. Hiervoor gebruiken we dieren die 21 dagen oud zijn, het moment waarop ontwikkeling van myeline het hoogst is. Globale aanpak vraagstelling: De vetzuurconcentraties die gemeten worden in het dier, kunnen gerelateerd worden aan het gedrag op die overeenkomende leeftijd. Het gebruik van proefdieren (muizen) is hier noodzakelijk, aangezien gedragstesten nog niet op een ander model (computermodel, cellen) uitgevoerd kunnen worden. Tevens gebeurt bloedafname ook enkel vanuit het proefdier, omdat dit de actuele status van de vetzuurconcentraties in het lichaam weergeeft. Dit maakt het mogelijk om dit te relateren aan de gedragsresultaten.

Titel studie: Het effect van early life stress en MR expressie op de ontwikkeling gedrag van de muis

DEC nummer: 2014.I.09.067

Het effect van stress tijdens het vroege leven op de ontwikkeling van gedrag

Achtergrond: Negatieve stressvolle gebeurtenissen gedurende de vroege (postnatale) periode na de geboorte brengen een toegenomen risico op neurologische en psychiatrische aandoeningen op volwassen leeftijd met zich mee. Gedragsstudies in knaagdieren laten zien dat in de eerste levensweek moederzorg de belangrijkste

omgevingsfactor is die de stressgevoeligheid en de cognitieve prestaties als volwassen dier beïnvloedt. In deze studie kijken we bij mannen en vrouwen of (sociaal en cognitief) gedrag en de ontwikkeling hiervan is aangetast in muizen die zijn blootgesteld aan stress en genetisch gevoelig zijn voor de mineralcorticoid receptor.

Doel/hypothese: De invloed van stress in het vroege leven wordt onderzocht op het gedrag van muizen. In een testbatterij door het leven van de muis worden de muizen op verschillende leeftijden (4, 6, 8, 10 en 12 weken oud) getest waarbij we de genetische gevoeligheid van een kandidaatsgen variëren. Door het gebruik van twee muislijnen waarbij de niveaus in het brein van dit gen van hoog tot laag gevarieerd kunnen worden kunnen we de effecten hiervan aan stress en gedrag relateren. Ook bestuderen we dit bij zowel mannen als vrouwen.

Globale aanpak vraagstelling: De ELS situatie bestaat uit het verminderen van nestmateriaal en bedding waardoor de zorg van de moeder voor de pups fragmentarisch wordt gedurende een periode van 7 dagen na de geboorte. Met dit diermodel simuleren we een situatie vergelijkbaar met een humane waarin kinderen vroeg in het leven chronische stress ondervinden in aanwezigheid van de moeder. We willen dit bestuderen in zowel mannetjes als vrouwtjes die een genetische gevoeligheid voor de MR hebben. Dit gen is in eerdere studies gelinkt aan stress-gerelateerde aandoeningen zoals depressie. We bestuderen specifieke gedragingen aan de hand van een uitgebreide testbatterij. Hierdoor kunnen we ons begrip vergroten van de ontstaansmechanismen van neuro-psychiatrische aandoeningen die mogelijk nieuwe therapeutische toepassing kunnen hebben. De complexi-

teit van de gedragsexperimenten in combinatie met de genetische achtergrond maakt dat deze experimenten niet in andere onderzoekssystemen (bijv computermodel) dan proefdieren te onderzoeken zijn.

Titel studie: Het belang van klankvolgorde en ritme op zangherkenning

DEC nummer: 2014.I.09.068

Hoe belangrijk is de structuur van het vader's liedje voor herkenning in zebravinken?

Achtergrond: Jonge zangvogels, zoals zebravinken, leren hun liedje door bijvoorbeeld de zang van hun vader te imiteren. Dit is vergelijkbaar met kinderen die taal leren door te luisteren naar de ouders. Zebravinken zijn daarom erg geschikt als model voor taal leren bij de mens. Door onderzoek naar zang leren en het geheugen van zang in zebravinken kunnen we uiteindelijk beter begrijpen hoe taal bij mensen werkt. Dit is ook van belang voor kennis over bepaalde spraak- en taalafwijkingen bij mensen. Doel/hypothese: In dit onderzoek stellen we de vraag hoe zebravinken het liedje van hun vader herkennen. Dus welke structuren in het vader's liedje worden onthouden en zijn belangrijk voor herkenning. Hoe belangrijk is bijvoorbeeld de klankvolgorde, ritme, enzovoorts? Of herkent een zebravink zijn vader's liedje voornamelijk op basis van de 'stem'? Dit kunnen we onderzoeken door het vader's liedje te manipuleren en te kijken of een zebravink nog steeds zijn vader's liedje herkent na de manipulaties. Globale aanpak vraagstelling: Tijdens het experiment wordt een volwassen zebravink blootgesteld aan liedjes van zijn vader. Ook hoort de zebravink liedjes van

een onbekende zebravink. Het gedrag van de zebravink wordt opgenomen op video. Als de zebravink zich anders gedraagt naar het vader's liedje ten opzichte van het onbekende liedje betekent dit dat de zebravink het vader's liedje herkent. Wij zullen bepaalde structuren in het vader's liedje manipuleren. De verwachting is dat als bepaalde structuren belangrijk zijn voor herkenning van zang, de zebravink niet meer het vader's liedje herkent na de manipulaties. Deze experimenten leveren dus informatie op over hoe zebravinken zang opslaan in het geheugen en hoe ze zang herkennen. Dit kan vergeleken worden met menselijk taal en geheugen.

Titel studie: Extended behavioral characterization of Pcdh9 knockout mice

DEC nummer: 2014.I.09.069

Uitbreiding gedragskarakterisatie Pcdh9 knockout muizen

Achtergrond: Cognitieve ontwikkelingsdefecten zijn een fundamenteel probleem bij psychiatrische ziektes zoals autisme en schizofrenie. De oorzaken van deze dysfuncties complex en zijn daarom moeilijk te onderzoeken. Recent hebben we een gen (Protocadherine 9; Pcdh9) gevonden dat selectief het zogenoemde sociale geheugen in muizen aantast, d.w.z. het vermogen om bekende van onbekende soortgenoten te onderscheiden. Interessant is dat hetzelfde gen in meerdere studies is geassocieerd met autisme in mensen, hetgeen suggereert dat Pcdh9 een regulerende rol op sociaal gedrag in zowel mensen als in muizen heeft. Dit maakt de muis zonder Pcdh9 tot een uniek model voor het bestuderen van genetische mechanismen in sociale cognitie. Verder heb-

ben we ook afwijkingen in de hersenschors bij de muizen zonder Pcdh9 gevonden, die mogelijk de afwijkingen in sociaal geheugen kunnen verklaren. We vonden verschillende neuro-anatomische afwijkingen in de hersenschors die opmerkelijk beperkt waren tot 2 gebieden die betrokken zijn bij de complexe informatieverwerking in het brein. Voorts hebben we getest of de sociale geheugen-defecten geassocieerd zijn met andere gedragsdefecten. We vonden dat muizen zonder het Pcdh9 gen niet alleen moeite hadden met lange termijn herkenning van soortgenoten maar ook moeite hadden met het op lange termijn herkennen van objecten. Tevens vonden we dat deze muizen vanaf de prepuberteit bepaalde motorische evenwichtsproblemen en verhoogde bewegingsactiviteit vertoonden. Echter, overige aan autisme gerelateerde sociale gedrags- en flexibiliteitstesten waren intact. Tezamen betekenden deze resultaten dat muizen zonder het Pcdh9 gen een uniek model vormen van cognitieve defecten in autisme.

Doel/hypothese: Het verder specificeren van het gedragsfenotype van de muizen zonder het Pcdh9 gen (zogenoeten Pcdh9 knockout muizen): zijn de geheugen problemen beperkt tot sociale en object herkenning of zijn er ook nog andere geheugen defecten? En hangen deze geheugen defecten samen met verhoogde prikkelgevoeligheid, zoals ingegeven door de afwijkingen in de zintuiglijke hersenschors van Pcdh9 knockout muizen?

Globale aanpak vraagstelling: De opzet van het onderzoek is om het Pcdh9 muizenmodel verder te verfijnen. Muizen met en zonder het Pcdh9 gen zullen worden onderzocht op verschillende geheugen en prikkelverwerkingstests in aanvulling op de eerdere onderzoekingen

op deze dieren. De inzet van proefdieren is noodzakelijk omdat in de humane situatie het niet mogelijk om a) individuen te onderzoeken met dezelfde Pcdh9 mutatie in een gecontroleerde (genetische) omgeving te onderzoeken. De relevantie van dit onderzoek blijkt uit het feit dat Pcdh9 eerder in meerdere studies is geassocieerd met autisme en dat andere Protocadherines zijn geïmpliceerd bij verschillende neuropsychiatrische stoornissen. Deze studie bouwt voort op eerdere bevindingen in de Pcdh9 knockout muis zoals in bovenstaand beschreven. Al met al hoopt deze studie belangrijke en specifieke mechanismen bloot te leggen achter sociale gedragsproblemen in psychiatrische ontwikkelingsstoornissen.

Titel studie: Mesenchymale stamcel (MSC) behandeling voor premature witte stof hersenschade

DEC nummer: 2014.I.09.070

Behandeling van witte stof hersenschade met mesenchymale stamcellen (MSC) in een muismodel voor te vroeg geboren baby's

Achtergrond: Wereldwijd wordt ca.10% van alle baby's te vroeg (ofwel prematuur) geboren. Een ernstige complicatie van vroeggeboorte is het ontstaan van schade in de witte stof (vetlaagje rond zenuwuitlopers) van de hersenen. Als gevolg van deze witte stof schade kampen de kinderen met motorische, cognitieve en psychologische aandoeningen voor de rest van hun leven. Op dit moment zijn er geen behandelingsopties voor deze kinderen. Kennis over hoe we de witte stof kunnen repareren na schade is dus van groot belang om een therapie

te kunnen ontwikkelen. We hebben eerder in een ander muismodel (voor hersenschade bij voldragen baby's) laten zien dat mesenchymale stamcellen (MSC) gegeven in de neus naar het gebied van hersenschade gaan en daar factoren produceren die de hersenen kunnen repareren. In deze huidige studie willen we bestuderen of behandeling met MSCs een nieuwe therapie kan zijn om witte stof hersenschade te herstellen in een muismodel voor te vroeg geboren baby's.

Doel/hypothese: Doel van deze studie is te onderzoeken of behandeling met MSCs witte stof hersenschade kan verminderen in een muismodel voor te vroeg geboren baby's. Onze hypothese is dat MSCs (groei)factoren zullen maken in het gebied van schade waardoor de hersencellen van de witte stof (genaamd oligodendrocyten) goed uitrijpen en de witte stof schade vermindert en de functie van de dieren verbetert.

Globale aanpak vraagstelling: De witte stof hersenschade wordt nagebootst in 5-dagen-oude muizen door een operatie waarbij eenzijdig verminderde zuurstof/bloed toevoer in de hersenen komt. Deze operatie wordt gecombineerd met een injectie waarbij er een milde ontsteking wordt opgewekt. De combinatie van verminderde zuurstof toevoer en de lichte ontsteking leidt tot specifiek witte stof schade in de hersenen. De muizen worden hierna behandeld met stamcellen (MSC) of een controle oplosmiddel via de neus. We kijken op 4 dagen na de MSC gift welke (groei) factoren geproduceerd worden in de hersenen. Verder kijken we op 2 en 4 weken na de behandeling met MSCs naar de effecten op de uitrijping van oligodendrocyten (dit zijn de cellen die de vetlaagjes/myeline produceren in de hersenen) en naar de witte stof

op anatomisch niveau. Als laatste zullen we bekijken wat de MSC therapie doet op het motorisch, cognitief en exploratief gedrag van de muizen. Omdat de witte stof hersenschade een zeer complex proces is wat ontstaat door meerdere systemen in het lichaam, t.w. de bloed-circulatie, de bloed-hersenbarrière, het immuunsysteem en de hersenen zelf, is het op dit moment niet mogelijk om de hersenschade na te bootsen in een celweek systeem. Omdat ook het gedrag van de muizen bestudeerd wordt, is het gebruik van intacte dieren onoverkomelijk.

Titel studie: Effects of treatment with mifeprestone and enriched environment after early life stress on social competence

DEC nummer: 2014.I.09.071

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 tege-nomen risico op lichamelijke en psychiatrische aandoeningen op volwassen leeftijd. Er zijn sterke aanwijzingen dat stressvolle gebeurtenissen in het vroege leven een verhoogde blootstelling aan glucocorticoiden (stresshormonen) ten grondslag ligt aan deze relatie. Gedragssstudies laten zien dat het scheiden van moeder en pups op jonge leeftijd de stressgevoeligheid, cognitieve prestaties (in ruimtelijke leertaken en besluitvaardigheidstaken) en hersenstructuur van knaagdieren op volwassen leeftijd

beïnvloedt.

Doel/hypothese: We onderzoeken wat de effecten zijn van maternale deprivatie in het vroege leven, op sociale competentie op volwassen leeftijd. We gaan dit onderzoeken middels drie taken waar sociale interactie ten grondslag ligt; sociaal spel gedrag op adolescentie leeftijd (social play) en sociale interactie (social approach) en een empathie-gebaseerde taak op volwassen leeftijd. Daarnaast bestuderen we of de (negatieve) effecten van maternale deprivatie kunnen worden voorkomen door de glucocorticoid receptor (1 van de 2 receptoren in de hersenen waar stresshormonen hun effect veroorzaken) op adolescentie leeftijd te blokkeren of door in diezelfde periode een verrijkte omgeving aan te bieden. We verwachten dat het blokkeren van de glucocorticoid receptor de balans tussen glucocorticoid receptor en mineralocorticoid receptor (de andere receptor waar stresshormonen in de hersenen hun effect veroorzaken) kan herstellen, waardoor het effect van maternale deprivatie kan worden teruggedraaid.

Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen op 3 dagen na de geboorte voor 24 uur van de moeder worden gescheiden. Op adolescentie leeftijd worden zij behandeld met een placebo of RU38486. RU38486 blokkeert de glucocorticoid receptor waardoor stresshormonen in de hersengebieden waar de glucocorticoid receptor aanwezig is geen effect kunnen veroorzaken. Een andere groep dieren krijgt in deze periode een verrijking van de thuishok. Vervolgens wordt het effect van deze behandelingen op de hersenen en op sociaal gedrag in adolescentie en volwassenheid bekeken. 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 en het relatief geringe ongerief van de dieren vinden we de experimenten ethisch aanvaardbaar.

Titel studie: Werking cannabinoïde en serotonerge stoffen in Fear Potentiated Startle in ratten

DEC nummer: 2014.I.09.072

De rol van het Cannabinoïde en het Serotonerge systeem in het brein tijdens angstbeleving

Achtergrond: Het Cannabinoïde systeem (genoemd naar de stof Cannabis, die via dit systeem in het brein zijn werking heeft) heeft in ieder geval 2 verschillende receptoren (CB1 en CB2). Het serotonerge systeem is het systeem waar onder andere prozac en andere antidepressiva op aangrijpen in de hersenen. Een receptor is een eiwit op een hersencel, welke geactiveerd of gedeactiveerd wordt als er een specifiek/ passend medicijn of lichaamseigen stof op de receptor aangrijpt. In eerder onderzoek is aangetoond dat de CB1 receptor is betrokken bij het verwerken van angst. Evenzo lijkt het er op dat 1 specifieke serotonine- subreceptor (de serotonerge 1A receptor (=5HT1A)) een cruciale rol speelt bij de angstbeleving. Helaas is er nog weinig bekend over de manier waarop de beide hersensystemen betrokken zijn bij angstprocessen. Dit onderzoek wordt gedaan in samenwerking met een humane onderzoeksgroep, zodat gedurende het onderzoek heel direct

studieresultaten van humaan en dier-onderzoek gekoppeld kunnen worden. Dit onderzoek richt zich op de functie/ rol van de CB1 receptor en de 5HT1A receptor tijdens de expressie van angst. Hiertoe testen we specifieke drugs die de CB1 receptor inactiveren of juist activeren of de 5HT1A receptor activeren of deactiveren. We testen deze stoffen in een Fear Potentiated Startle procedure. In deze test wordt een persoon of dier blootgesteld aan een plotseling hard geluid. De schrikreactie (=startle) wordt gemeten (bij mensen middels elektroden rond de ogen, ogen trekken samen tijdens een startle, en bij ratten door de beweging van de vloerplaat te meten, hier wordt beweging (reactie) van het hele lichaam gemeten). Kennis van de mechanismen in het brein tijdens het verwerken van angst, zal bijdragen aan een betere therapie voor angst en stress gerelateerde aandoeningen als PTSD, psychosen en fobieën.

Doel/hypothese: Doel: Uitzoeken hoe de CB1 receptor en de 5HT1A receptor angstbeleving beïnvloeden: is er sprake een activerende of inactiverende rol en wat is het effect tijdens de expressie van angst.

Globale aanpak vraagstelling: We werken nauw samen met een humane onderzoeksgroep. Eén van de beperkingen van het humane onderzoek is het gebruik van experimentele medicijnen. Met deze experimentele medicijnen kan specifiek naar de receptorwerking gekeken worden door de receptor te activeren of te inactiveren. De dieren (ratten) wordt tijdens een 40 minuten durende acquisite training (aanleren van angst) geleerd dat een lampje betekent dat een voetschok volgt (0.6mA, 50 msec). 24 uur na de training worden de dieren geïnjecteerd met een medicijn en getest. Ze krijgen dan in dezelfde box korte

harde geluiden te horen (95, 100 of 105 dB, 50 msec), die een schrikreflex (startle-beweging) veroorzaken. De helft van deze geluiden wordt gecombineerd met een lampje. Dit lampje zal appelleren aan de schok van de training en de schrikreactie versterken. De computer registreert alle startle reacties. Het verschil tussen de reactie op een hard geluid met en een hard geluid zonder lampje noemen we de Angst-Potentiatie. We zijn heel benieuwd hoe deze medicijnen invloed hebben op deze Angst-Potentiatie.

Titel studie: Track Experimental Pharmacologie
DEC nummer: 2014.I.09.073

Specialisatie cursus farmacologie

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: De track Experimental pharmacology is bedoeld voor Master studenten Drug innovation die zich verder willen specialiseren in het onderzoeksgebied farmacologie. Deze studenten vertegenwoordigen de toekomstige generatie geneesmiddelen onderzoekers. Het doel is studenten ervaring op te laten doen met alle aspecten van farmacologisch onderzoek in theorie en praktijk. De track is ontwikkeld rondom de 4 belangrijkste pijlers voor preklinisch farmacologisch onderzoek: wetenschapsfilosofie, complexe farmacologische modellen, laboratorium vaardigheden, opzetten en uitvoeren van onderzoek via de theorie-praktijk-theorie cyclus. Aan de hand van colleges, werkgroepen, opdrachten, computer simulaties, analyse van bestaande data sets en practica zullen zij zich verdiepen in de meer complexe farmacokinetiek en dynamiek, en de daaraan verwante

onderzoeksmethoden en technieken van preklinisch onderzoek. Voor een aantal practica worden proefdieren gebruikt.

Opzet van het onderwijsmoment: Na een uitvoerige theoretische verdieping wordt een 4-tal studies gedaan die oplopen in complexiteit. In de eerste 2 studies wordt het gedrag van ratten geobserveerd nadat ze behandeld zijn met farmaca die het gedrag en/of de lichamelijke reflexen van de dieren beïnvloeden. Vervolgens worden de dieren gedood en worden er 2 typen experimenten gedaan in orgaanbadjes om de effecten van geneesmiddelen op de darm te bepalen. Het practicum is dusdanig opgezet dat inzichtelijk wordt gemaakt dat geneesmiddelen overal in het lichaam effecten hebben, en dat studenten ook leren te onderzoeken en verklaren hoe ongewenste bijwerkingen van geneesmiddelen ontstaan. Gebruik van proefdieren is hierbij essentieel omdat het een reëel beeld geeft van het vakgebied, studenten leren wat de invloed is van biologische variatie, van controle condities en intra- en interproef variatie. Inzicht krijgen in de effecten van geneesmiddelen op hersensystemen aan de hand van gedragsobservaties is extra relevant, aangezien het observeren van diergedrag bij het werken met proefdieren altijd belangrijk is voor het dierenwelzijn en de kwaliteit van de proef. De ethische aspecten rondom het gebruik van proefdieren en de validiteit van diermodellen komen nadrukkelijk aan de orde in dit onderwijs element.

Vergadering 8 oktober 2014

Titel studie: De invloed van early life stress op de excitatie-inhibitie balans in de prefrontale cortex bij de muis en de invloed van de mineralocorticoid receptor daarop

DEC nummer: 2014.I.10.074

De invloed van stress tijdens het vroege leven op de hersenfunctie gedurende een aantal levens stadia; welke rol speelt een bepaald stresshormoon daarin

Achtergrond: Negatieve stressvolle gebeurtenissen gedurende de vroege (postnatale) periode na de geboorte brengen een toegenomen risico op neurologische en psychiatrische aandoeningen op volwassen leeftijd met zich mee. Gedragstudies in knaagdieren laten zien dat in de eerste levensweek moederzorg de belangrijkste omgevingsfactor is die de stressgevoeligheid en de cognitieve prestaties als volwassen dier beïnvloedt. Ook zijn er studies die laten zien dat genetische variatie in een van de stress hormoonreceptoren (mineralocorticoid receptor) beschermend kan werken tegen de effecten van stress waardoor de effecten van vroege stress tegen zouden kunnen worden gegaan. Het onderliggende mechanisme in het brein maar ook hoe dit zich ontwikkelt over tijd is echter niet bekend.

Doel/hypothese: In dit project bestuderen we in proefdieren (muizen) of een stress situatie tijdens de eerste levensweek (early life stress, ELS) permanente gevolgen heeft voor de functie van de hersenen. We doen dit aan de hand van een diermodel waarin aan de hand van ge-

netische manipulatie de expressie van de MR laag, hoog of gemiddeld in het brein aanwezig is. Ook bestuderen we over tijd hoe deze veranderingen tot stand komen door de parameters op kritieke momenten tijdens ontwikkeling te bestuderen (o.a. puberteit, volwassenheid etc).

Globale aanpak vraagstelling: De ELS situatie bestaat uit het verminderen van nestmateriaal en bedding waardoor de zorg van de moeder voor de pups fragmentarisch wordt gedurende een periode van 7 dagen na de geboorte. Met dit diermodel simuleren we een situatie vergelijkbaar met een humane waarin kinderen vroeg in het leven chronische stress ondervinden in aanwezigheid van de moeder. Enerzijds bestuderen we directe veranderingen door direct na de stressor te kijken, anderzijds de lange termijn effecten van de prefrontale cortex in het brein (belangrijk voor cognitie en geheugen). Hierdoor kunnen we ons begrip vergroten van de ontstaansmechanismen van neuro-psychiatrische aandoeningen die mogelijk nieuwe therapeutische toepassing kunnen hebben. De complexiteit van de experimenten in combinatie met het ontwikkelingsaspect maakt dat deze experimenten niet in andere onderzoekssystemen dan proefdieren te onderzoeken zijn. Gezien het maatschappelijke en wetenschappelijke belang van deze experimenten en het geringe/matige ongerief dat de dieren ondervinden vinden we deze proeven ethisch aanvaardbaar.

Titel studie: Het effect van MR expressie op sociaal gedrag in de muis

DEC nummer: 2014.I.10.075

Het effect van stress tijdens het vroege leven op sociaal gedrag van de muis

Achtergrond: Negatieve stressvolle gebeurtenissen gedurende de vroege (postnatale) periode na de geboorte brengen een toegenomen risico op neurologische en psychiatrische aandoeningen op volwassen leeftijd met zich mee. Gedragsstudies in knaagdieren laten zien dat in de eerste levensweek moederzorg de belangrijkste omgevingsfactor is die de stressgevoeligheid en de cognitieve prestaties als volwassen dier beïnvloedt. In deze studie kijken we bij mannen en vrouwen of sociaal gedrag is aangetast in muizen die door een genetische ingreep meer of minder mineralocorticoïd receptoren bezitten waardoor stress hormonen meer of minder effectief zijn.

Doel/hypothese: 1) Wat is het effect van stress op sociaal en repetitief gedrag? 2) Wat is het effect van lage/hoge hersenfunctie van MR hierop? 3) Is dit effect verschillend tussen mannen en vrouwen?

Globale aanpak vraagstelling: De stress situatie bestaat uit het verminderen van nestmateriaal en bedding waardoor de zorg van de moeder voor de pups fragmentarisch wordt gedurende een periode van 7 dagen na de geboorte. Met dit diermodel simuleren we een situatie vergelijkbaar met een humane waarin kinderen vroeg in het leven chronische stress ondervinden in aanwezigheid van de moeder. We willen dit bestuderen in zowel mannetjes als vrouwtjes die een genetische gevoeligheid voor de MR

hebben. Dit gen is in eerdere studies gelinkt aan stress-gerelateerde aandoeningen zoals depressie. We bestuderen specifieke sociale gedragingen die door de prefrontale cortex in het brein worden gereguleerd. Hierdoor kunnen we ons begrip vergroten van de ontstaansmechanismen van neuro-psychiatrische aandoeningen die mogelijk nieuwe therapeutische toepassing kunnen hebben. De complexiteit van de gedragsexperimenten in combinatie met de genetische achtergrond maakt dat deze experimenten niet in andere onderzoekssystemen (bijv. computermodel) dan proefdieren te onderzoeken zijn. De muizen zullen 3 verschillende gedragstesten ondergaan. De eerste test, sociaal gedrag bij jonge muizen, gebeurt op de leeftijd van 3 weken. Als ze volwassen zijn worden ze getest op het herkennen van muizen (sociale herkenning) en hun stereotiepe herhalende gedrag. Nadien worden de hersenen onderzocht op afwijkingen in structuur.

Titel studie: Neurale basis voor individuele verschillen in alcoholconsumptie

DEC nummer: 2014.I.10.076

Neurobiologische processen die individuele verschillen in alcoholinname bepalen

Achtergrond: Alcoholverslaving is een groot medisch en maatschappelijk probleem. Er bestaan grote individuele verschillen in de gevoeligheid voor verslaving, maar er is weinig bekend over de factoren die deze individuele verschillen in alcoholverslaving bepalen. Wij kunnen hoog consumerende en laag consumerende alcohol drinkende

ratten onderscheiden in onze populaties ratten, wat ons in staat stelt onderzoek te doen naar de onderliggende neurobiologische processen.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om de neurobiologische basis van individuele verschillen in de gevoeligheid voor alcoholverslaving te bepalen.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek wordt de activiteit van verschillende hersengebieden in ratten gemeten met behulp van MRI, zowel voor als na alcoholconsumptie.

Titel studie: The effects of GOS/FOS, bifidobacterium breve and glutamine on behavioral, brain and immune deficits induced by intrauterine inflammation and involvement of the gut microbiome

DEC nummer: 2014.I.10.077

De effecten van voedingscomponenten (pre- en probiotica en glutamine) op afwijkingen in gedrag, brein en immuun systeem geïnduceerd door ontsteking in de baarmoeder; de betrokkenheid van het darm microbiom

Achtergrond: Dit onderzoek is onderdeel van een lopend consortium waarin onderzoekers meer inzicht hopen te krijgen in de ontwikkeling van de hersenen van te vroeg geboren baby's, door middel van klinische en preklinische studies. Het onderzoek richt zich hierbij op de zogeheten 'gut-immune-brain-axis' (ofwel de drie-eenheid: darmkanaal/immuunsysteem/hersenen) en de rol van voeding. Op deze manier ontstaat er een duidelijker beeld van de wijze waarop bepaalde voeding de ontwikkeling van de hersenen kort na de geboorte kan ondersteunen, evenals

de gevolgen hiervan op latere leeftijd. Ontsteking in de baarmoeder (intra-uterien) is een belangrijke oorzaak van vroeggeboorte en geeft een verhoogde kans op een verstoorde ontwikkeling van het brein. Ontsteking in de baarmoeder bij muizen leidt tot immuun activatie in het brein. Dit muizenmodel geeft meer inzicht in de mechanismen waarop intra-uteriene inflammatie schade toebrengt aan het brein en dus de kans op neuronale ontwikkelingsstoornissen verhoogt. Eerdere studies hebben aangetoond dat toevoeging van glutamine aan voeding de breinontwikkeling van te vroeg geboren baby's kan verbeteren. Daarnaast is aangetoond dat toevoeging van pre- en probiotica aan voeding de ontwikkeling van het immuunsysteem van te vroeg geboren baby's ondersteunt. De effecten van de combinatie van deze componenten op breinontwikkeling en immuun activatie in te vroeg geboren baby's zal worden onderzocht in een klinische studie.

Doel/hypothese: In dit experiment wordt onderzocht hoe de combinatie van glutamine, pre- en probiotica mogelijk breinontsteking en gedragsafwijkingen als gevolg van ontsteking in de baarmoeder kan behandelen en op die wijze de ontwikkeling van het brein ondersteunt.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek gebruiken we een muizenmodel voor ontsteking in de baarmoeder, waarbij op dag E15 van de zwangerschap lipopolysaccharide (LPS) geïnjecteerd wordt in de baarmoeder. LPS is een onderdeel van gram-negatieve bacteriën en veroorzaakt activatie van het immuunsysteem in de baarmoeder. Dit leidt tot breinontsteking en veranderingen in gedrag later in de nakomelingen later in het leven. Vanaf de dag van geboorte wordt glutamine,

pre- en probiotica gegeven aan de pups. Na spenen worden ze blootgesteld aan verschillende gedragstesten die richten op angst, sociaal gedrag, denk- en bewegingsvermogen. Na afloop worden weefsels verzameld voor verder onderzoek naar breinontwikkeling en het immuunsysteem.

Titel studie: Werking van cannabinoïdsysteem bij onderdrukken van angstrespons

DEC nummer: 2014.I.10.078

Rol van de cannabinoïd receptor bij de regulatie van context angst

Achtergrond: Om goed te kunnen functioneren is het belangrijk dat mensen onderscheid kunnen maken tussen de aan- afwezigheid van gevaar. Mensen met een angststoornis kunnen dit vaak niet, omdat zij informatie uit de omgeving anders verwerken, of omdat ze hun angstreactie niet goed kunnen onderdrukken. Het endo-cannabinoïde systeem is belangrijk bij informatie verwerking en het onderdrukken van gedrag.

Doel/hypothese: Met deze studies onderzoeken wij of cannabinoïde receptoren een rol spelen bij het verwerken van informatie die op gevaar duidt en of deze receptoren van belang zijn bij het onderdrukken van de angstreactie.

Globale aanpak vraagstelling: We leren dieren (ratten) dat ze een schok krijgen als ze een bepaalde toon horen, tenzij er ook een licht aangaat. Na deze training worden de dieren behandeld met een geneesmiddel dat de werking van de cannabinoïd receptor stimuleert, of juist blokkeert. Vervolgens meten we of deze geneesmid-

delen de angstreacties van de dieren hebben veranderd. Deze testen zijn niet na te bootsen met computers, en (nog) niet uit te voeren in mensen, omdat dan eerst moet worden aangetoond dat het gebruik van deze geneesmiddelen helemaal veilig is voor mensen.

Titel studie: Neuronale activiteit en gedrag

DEC nummer: 2014.I.10.079

Meten van neurale activiteit van dopamine cellen tijdens gedrag

Achtergrond: De hersenen spelen een grote rol in eetgedrag, en afwijkingen in dit gedrag bij bijvoorbeeld obesitas en anorexia gaan gepaard met afwijkingen in de hersenen. Van specifiek belang lijken de hersencellen te zijn die gebruik maken van de signaalstof dopamine. Deze dopamine cellen zijn van belang bij de motivatie om te gaan eten. Om de relatie tussen de functie van deze hersencellen en het eetgedrag te bestuderen, zullen wij in deze experimenten valideren dat wij in staat zijn om gebruik te maken van een nieuwe techniek, optogenetics, waarmee lichtgevoelige cellen kunnen worden ge(in)activeerd, tijdens het meten van hersenactiviteit in een gedragstaak.

Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is om lichtgevoelige hersencellen te meten tijdens een gedragstaak. Vervolgens zullen wij onderzoeken wat de relatie is tussen neurale activiteit en het gedrag.

Globale aanpak vraagstelling: Tijdens dit onderzoek zijn wij geïnteresseerd in de relatie van eetgedrag en hersenactiviteit. Om dit te kunnen onderzoeken zijn proefdieren noodzakelijk. Ratten zullen op een taak getraind worden

waarbij zij beloningen kunnen verdienen. Vervolgens zullen de dieren geopereerd en behandeld worden waardoor het mogelijk wordt om hersenactiviteit tijdens deze taak te meten. Ook is het nu mogelijk om lichtgevoelige hersencellen te activeren, en zo specifieke neuron typen te identificeren.

Titel studie: Combining pharmacology/optogenetics and imaging to assess the influence of feeding hormones, oral and gastric factors, and specific dopaminergic neural circuits on the regulation of energy balance

DEC nummer: 2014.I.10.080

Pharmacology/optogenetics and MRI gecombineerd om samen de effecten van voedingshormonen, mond- en maagfactoren, en specifieke dopaminerge hersengebieden en projecties te bepalen op de regulatie van energie balans

Achtergrond: Obesitas en andere eetstoornissen vormen een groot probleem voor de samenleving. Lekker en calorierijk voedsel is ruimschoots aanwezig in Westerse landen. De belonende waarde ervan kan de motivatie voor eten verhogen en overeten stimuleren. Dit vormt een belangrijke bijdrage aan de ontwikkeling en instandhouding van obesitas. Het is van cruciaal belang om onderzoek naar de regulatie van energie balans en voedingsgedrag te doen, om tot een beter begrip te komen van de neurobiologische mechanismen die ten grondslag liggen aan gezond eetgedrag, maar ook aan eetgedrag dat leidt tot obesitas. Uit dierstudies is veel bekend over de cellulaire mechanismen die betrokken zijn bij de regulatie van

energie balans. Aan de kant van het humane onderzoek waar voornamelijk hersenscans gemaakt worden, zijn verschillende studies gedaan waarin men kijkt naar hersenactiviteitspatronen die betrokken zijn bij de regulatie van eetgedrag. Tot op de dag van vandaag is het echter nog steeds onduidelijk hoe deze twee begripsniveaus samen hangen. Hoe kunnen hersenactiviteitspatronen op scans verklaard worden met cellulaire data uit dierstudies? Om echt goed te begrijpen hoe energiebalans en eetgedrag gereguleerd worden, is het van essentieel belang om deze verschillende onderzoeksgebieden te verbinden. De invloed van het koppelen van deze twee onderzoeksgebieden gaat veel verder dan alleen een beter begrip van de regulatie van eetgedrag, aangezien deze aanpak het fundamentele vraagstuk aanpakt hoe cellulaire activiteit zich verhoudt tot activiteit in het brein als geheel zoals gemeten wordt met hersenscans. Het is bekend dat verschillende factoren voedselinname, motivatie voor voedsel en voedsel-keuzegedrag beïnvloeden. Deze factoren zijn bijvoorbeeld voedingshormonen, mond- en maagfactoren (zoals smaak en maagrek) en activiteit in bepaalde projecties tussen verschillende hersengebieden. Wij gaan een set experimenten uitvoeren, waarbij verschillende vooruitstrevende technieken gebruikt worden om deze factoren die voedingsgedrag beïnvloeden te manipuleren. De manipulatie van deze factoren zal op een cellulair niveau zijn. Vervolgens zullen we de invloed van deze manipulaties op voedselgedrag en op hersenactiviteit (zoals gemeten met een scan van de hersenen van de ratten) analyseren. Dit biedt de mogelijkheid om neurofysiologische/cellulaire data van dierstudies te relateren aan gedragsdata en aan activi-

teit op hersenscans van de dieren. Met deze data zal vervolgens de vertaalslag naar de mens gemaakt worden, door gedrag en hersenscans van ratten en mensen te vergelijken. Door middel van deze studies kunnen we het gat tussen verschillende begripsniveaus overbruggen. Het gat tussen gedragsdata en imaging- (hersenactiviteit op scans) data zal overbrugd worden, net als het gat tussen dier en mens-studies. Dit zal een completer begrip van de regulatie van energie balans en voedingsgedrag creëren, zowel in de gezonde situatie als in een pathologische situatie zoals bij obesitas of anorexia nervosa het geval is.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoeksproject is om verschillende begripsniveaus te verbinden. Wij willen activiteit op een cellulair niveau, die we beïnvloeden door bepaalde manipulaties uit te voeren die populaties van neuronen activeren of remmen, koppelen aan activiteit op een neurale circuit niveau en aan gedrag. De manipulaties die we gaan uitvoeren zijn injecties met voedingshormonen, mond- en maagfactoren beïnvloeden, en de activiteit in bepaalde hersengebieden en projecties daartussen manipuleren. We weten dat deze manipulaties een effect hebben op motivatie voor voedsel, voedselkeuze-gedrag en voedsel inname. Omdat we voeding gerelateerde gedragingen analyseren en ook hersenactiviteitspatronen door middel van hersenscans bestuderen, kunnen we bepaalde cellulaire manipulaties koppelen aan gedrag en aan hersenactiviteitspatronen. Dit zorgt ervoor dat we de kloof tussen gedragsstudies en studies waarin gekeken wordt naar hersenactiviteitspatronen kunnen overbruggen. Ook kunnen we dierstudies door deze experimenten vergelijken met

vergelijkbare studies in mensen. Door deze verschillende begripsniveaus te verbinden, kan kennis over de regulatie van energiebalans vanuit verschillende onderzoeksgebieden gecombineerd worden. Dit zal ons inzicht in en begrip van de regulatie van energiebalans en voedselinname, zowel in de gezonde als in de zieke situatie, vergroten.

Globale aanpak vraagstelling: Dit project bestaat uit vier hoofddelen. In het eerste deel (A) willen we de invloed van voedingshormonen in verschillende staten van energie balans onderzoeken. Gehongerde of verzadigde dieren zullen injecties krijgen met een voedingshormoon en de invloed hiervan op hun motivatie voor voedsel, het voedselkeuzegedrag, voedselinname en op hersen MRI patronen zal onderzocht worden. Een pilot studie voor dit experiment is al uitgevoerd. Het tweede deel (B) bestaat uit gehongerde of verzadigde dieren die in een MRI scanner geplaatst zullen worden. Gedurende het scannen zullen (smaak hebbende) vloeistoffen door de mondholte gespoeld worden of er zal door middel van een ballonnetje voor maagrek gezorgd worden. MRI scans zullen de verschillen tussen een gehongerde en verzadigde staat aantonen, en de mogelijke verschillende effecten van mond- en maagfactoren op verzadigings- en voedselanticipatie gerelateerde netwerken. Het derde deel (C) combineert een farmacogenetische methode (Designer Receptor Exclusively Activated by a Designer Drug; DREADD) met functionele Magnetic Resonance Imaging (fMRI). Hiermee bepalen we hoe verhoogde of verlaagde activiteit van dopamine neuronen de regionale activiteit beïnvloed zoals gemeten met fMRI in hongerge en verzadigde ratten. In het laatste deel (D) zal

een farmacogenetische methode gebruikt worden om te onderzoeken in hoeverre (de)activatie van dopamine neuronen keuzegedrag beïnvloedt. Dopamine neuronen in het midbrein en specifieke dopaminerge projecties zullen geactiveerd of geïnhibeerd worden en het resulterende gedrag van het dier (voedselkeuze gedrag, motivatie voor, anticipatie op, en inname van voedsel) zullen onderzocht worden. De ratten worden ook blootgesteld aan een keuze tussen soorten voedsel die verschillen in macronutriënten samenstelling. Hun motivatie voor deze verschillende soorten voedsel zal onderzocht worden. Verder zal de invloed van honger, verzadiging, en hormoon voorbehandeling (leptine, ghreline, insuline) op keuzegedrag en motivatie onderzocht worden. Omdat we met deze experimenten een brug willen slaan tussen mens en dier onderzoek met betrekking tot het systeem van energie balans, is het noodzakelijk dieren te gebruiken voor dit onderzoek. We willen de techniek die vaak in humane experimenten gebruikt wordt, namelijk MRI, in dieren toepassen, waaraan we hormonale injecties kunnen geven en waarin we de activiteit van specifieke dopaminerge hersengebieden en projecties kunnen moduleren. Het relateren van de kennis die door middel van dierexperimenten verkregen is, aan humane data is van groot belang. Dit overstijgt het relatief lage niveau van ongemak bij de dieren.

Titel studie: Optical intrinsic signal imaging en MRI na beroerte

DEC nummer: 2014.I.10.081

Optical Intrinsic Signal Imaging en MRI na beroerte

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 studies met beeldvormende technieken (o.a. MRI) hebben aangetoond dat dit gepaard gaat met veranderingen in intacte hersengebieden, mogelijkwerwijs om het verlies van functies in de beschadigde gebieden op te vangen. Hoe dit precies werkt en welke gebieden hier precies bij betrokken zijn is grotendeels onbekend. Daarnaast is het onduidelijk of en hoe dit versterkt kan worden door revalidatietherapie.

Doel/hypothese: De doelen van dit onderzoek zijn:

1) Het opzetten van een nieuwe techniek waarmee in een levend dier activiteit in de hersenen kan worden gemeten met behulp van licht (optical intrinsic signal (IOS) imaging). 2) Karakteriseren van veranderingen in hersenactiviteit tijdens herstel na beroerte, en evalueren hoe deze veranderingen verband houden met herstel in de motoriek. Deze metingen worden uitgevoerd met behulp van: IOS imaging; in de directe omgeving van het herseninfarct en MRI; in het hele brein. De hypothese is dat we met behulp van IOS imaging subtiele veranderingen in het hersenweefsel in de directe omgeving van het infarct kunnen meten. Naar verwachting kunnen we deze veranderingen niet detecteren met behulp van MRI. Daarentegen verwachten we dat we met behulp van MRI

ook veranderingen dieper in de hersenen zullen detecteren, hetgeen niet mogelijk is met IOS imaging. We verwachten daarom dat de combinatie van deze technieken het huidige inzicht in veranderingen in het hersenweefsel na beroerte zal vergroten.

Globale aanpak vraagstelling: In de eerste fase van de studie wordt de techniek opgezet en geoptimaliseerd om IOS metingen te kunnen verrichten in levende muizen en ratten. In de tweede fase zullen muizen het ratten het volgende protocol ondergaan: gedragstesten; waarbij wordt gekeken naar de motoriek voorafgaand aan beroerte, en op verschillende tijdstippen na beroerte, induceren van een beroerte; door inspuiten van een lichtgevoelige stof in combinatie met het belichten van de hersenen door een intacte schedel, functionele MRI metingen, en direct daarna functionele IOS metingen; in een vroeg (1 dag) of laat stadium (dag 28) na beroerte. Tijdens deze metingen worden de voorpoten elektrisch gestimuleerd. Na afloop van deze metingen wordt het dier gedood, en worden de hersenen uitgenomen voor histologie. 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: Therapeutic non-invasive brain stimulation after experimental stroke

DEC nummer: 2014.I.10.082

Therapeutische niet-invasieve brein stimulatie (NIBS) na experimentele beroerte

Achtergrond: Hersenberoertes zijn één van de voornaamste oorzaken van mortaliteit, morbiditeit en invaliditeit in de moderne samenleving. Momenteel is er maar 1 effectieve behandeling beschikbaar voor patiënten met een beroerte. Deze therapie kan echter alleen maar worden toegediend in de eerste 4,5 uur na ontstaan van de beroerte, waardoor slechts een klein aantal patiënten kunnen worden behandeld. Dit benadrukt de noodzaak voor alternatieve therapieën die het mogelijk maken om patiënten ook in een later stadium te behandelen. Recent wetenschappelijke studies hebben aangetoond dat niet-invasieve hersenstimulatie (NIBS), een verbetering in functioneel herstel na beroerte kunnen veroorzaken. Niet-invasieve hersenstimulatie betekent dat de hersencellen gestimuleerd kunnen worden door de intacte huid en de schedel, zonder de noodzaak van chirurgie of implantatie van elektrodes in de hersenen. Zowel transcraniële magnetische stimulatie (TMS) en direct current stimulatie (tDCS) zijn voorbeelden van NIBS, echter elk van deze technieken hebben verschillende mechanismen en worden op verschillende manieren toegepast. TMS is een techniek die door middel van een magnetisch veld een specifiek deel van de hersenen stimuleert met als doel de elektrische activiteit in dat gedeelte van de hersenen toe te laten nemen of af te laten nemen. De hersencellen worden op deze manier tijdelijk meer

of minder actief. tDCS wordt toegediend met behulp van elektroden die aangebracht worden op de schedel. Kleine elektrische schokken worden op deze manier de hersenen in gestuurd, hetgeen lokaal de hersenactiviteit moduleert. Zowel met tDCS als TMS wordt geen schade veroorzaakt in de hersenen. Vanwege het vermogen van NIBS om veranderingen in de hersenen te veroorzaken, wordt het beschouwd als een waardevol hulpmiddel om de mechanismen van reparatie en herstel in de hersenen te onderzoeken, hetgeen zal leiden tot de ontwikkeling van niet-invasieve hersenstimulatie behandelingen die herstel na een beroerte kunnen verbeteren. Tevens zijn er ook aanwijzingen dat de effecten van NIBS versterkt kunnen worden door additionele fysiotherapie. Ondanks uitgebreid onderzoek en veelbelovende resultaten, zijn er tot op heden nog steeds geen optimale en gestandaardiseerde behandelingsprotocollen voor NIBS. Daarnaast is het werkingsmechanisme van NIBS tot op heden nog niet ontrafeld. Het exacte werkingsmechanisme kan idealiter worden bestudeerd in experimentele diermodellen, die het mogelijk maken om de langdurige effecten van NIBS onder gecontroleerde en reproduceerbare omstandigheden in kaart te brengen.

Doel/hypothese: De doelen van deze studie zijn:

- Het tot stand brengen van een effectieve experimentele opstelling voor NIBS in ratten.
- Het verkrijgen van een optimaal stimulatie protocol voor rTMS en tDCS in ratten, die zal leiden tot maximaal functioneel herstel na een beroerte.
- Vast stellen of het gunstiger is om NIBS uit te voeren in wakkere dieren of in dieren onder anesthesie. Indien

anesthesie als gunstiger wordt bevonden dan wordt tevens vastgesteld welk type anestheticum het beste effect geeft.

- Vast stellen of er een verschil is in functioneel herstel na beroerte, afhankelijk van het tijdstip waarop NIBS wordt gestart (5 dagen (subacute) en 14 dagen (subchronische) na beroerte).
- Bepalen welk type NIBS behandeling (rTMS of tDCS) het meest effectief is in het bevorderen functioneel herstel na beroerte.
- Bepalen er een therapeutisch voordeel is van het combineren van NIBS met een bovengemiddeld verrijkte leefomgeving. We veronderstellen dat repetitieve TMS en tDCS in combinatie met een verrijkte leefomgeving leidt tot een hogere mate functioneel herstel na beroerte dan (1) dieren die niet behandeld worden met NIBS en (2) dieren zonder verrijkte leefomgeving.

Globale aanpak vraagstelling: In de eerste fase wordt een experimentele opstelling geoptimaliseerd, die het mogelijk moet maken om dieren te behandelen met rTMS en tDCS. In de tweede fase wordt bepaald welk anestheticum het meest effectief is voor rTMS en tDCS. Er worden 3 anesthetica getest: isofluraan, propofol en dexmedetomidine. Daarnaast worden dezelfde experimenten ook uitgevoerd in wakkere dieren. Dieren ondergaan dagelijks rTMS en tDCS gedurende 5 dagen. Direct daarna (en binnen 3-7 na de laatste stimulatie sessie) worden MRI scans gemaakt om het effect van herhaalde rTMS en tDCS te bepalen. Na afloop van het laatste MRI experiment worden de dieren geëuthanaseerd, en worden de hersenen uitgenomen voor histologie. In de

derde fase wordt de geoptimaliseerde opstelling (fase 1) en het meest effectieve anestheticum (fase 2) gebruikt voor rTMS en tDCS in ratten met een beroerte. Met behulp van gedragsstudies en MRI wordt het therapeutisch effect van rTMS en tDCS vast gesteld. In deze fase onderzoeken we tevens: 1) het effect van het tijdstip waarop de therapie wordt gestart (5 dagen (subacute) en 14 dagen (subchronische) na beroerte) en 2) het effect van een combinatie therapie van NIBS en verrijkte leefomgeving. In het geval van een verrijkte omgeving worden de ratten in grotere groepen gehuisvest (ongeveer 7 per kooi) in een grote kooi, met daarin een grote variatie aan platforms, buizen, cilinders etc. Na afloop van de experimenten worden de dieren geëuthanaseerd, en worden de hersenen uitgenomen voor histologie. Om het effect van NIBS therapie op de hersenen 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 het effect van NIBS therapie op herstelprocessen, en uiteindelijk tot verbeterde protocollen voor NIBS therapie in de mens.

Vergadering 5 november 2014

Titel studie: Vertraagde afgifte van antipsychotica; gedragseffecten bij muizen

DEC nummer: 2014.I.11.083

Vertraagde afgifte van antipsychotica; gedragseffecten bij muizen

Achtergrond: Wanneer antipsychotica worden getest in proefdieren, worden ze meestal maar 1x gegeven. Patiënten slikken deze geneesmiddelen echter veel langer. Om beter te kunnen onderzoeken welk effect een antipsychoticum heeft in de hersenen is het daarom beter dit geneesmiddel langere tijd te geven.

Doel/hypothese: Kun je door het antipsychoticum te verpakken in microsferen (kleine bolletjes die in het lichaam heel langzaam oplossen), er voor zorgen dat het geneesmiddel met een injectie van de bolletjes 7 dagen werkzaam blijft in het lichaam? En is het effect dan sterker of minder sterk dan wanneer je het antipsychoticum zelf 1 keer geïnjecteerd had?

Globale aanpak vraagstelling: Muizen krijgen of de bolletjes of het gewone antipsychoticum geïnjecteerd. Vervolgens meten we om de paar dagen, gedurende 1 week hoe goed ze reageren op signalen uit de omgeving. Om te onderzoeken welk effect antipsychotica op de hersenen hebben, hebben we proefdieren nodig. Een testopstelling in het lab kan namelijk niet alle processen in het lichaam nabootsen die betrokken zijn bij de effecten van geneesmiddelen op de hersenen.

Titel studie: EEG measurements during sensory processing in freely moving Pcdh9 mutant mice

DEC nummer: 2014.I.11.084

EEG analyse van gestoorde sensorische 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 te zijn bij het vermogen van muizen om onderscheid tussen bekende en onbekende soortgenoten te maken. Dit model mist een of meerdere kopieën van het Pcdh9 gen, een gen dat bij mensen geassocieerd is met autisme. In verdere studies hebben we laten zien dat mutaties van dit gen in muizen de ontwikkeling van een gedeelte van de hersenschors, de somatosensorische cortex, verstoort. Dit gebied lijkt ook bij mensen een belangrijke rol bij gezichts en emotieherkenning te vervullen, zoals is gebleken uit functionele 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 onze Pcdh9 muizen hopen we een unieke link te kunnen leggen tussen sociale en sensorische informatie verwerking, 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 somatosensorische 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 procadherine-9 (Pcdh9) gen eerder in meerdere studies is geassocieerd met autisme en dat andere protocadherines zijn geïmpliceerd bij verschillende neuro-psychiatrische stoornissen. Deze studie bouwt voort op eerdere bevindingen in de Pcdh9 knockout muis. De opzet van het onderzoek betreft het meten van neurale activiteit middels EEG in Pcdh9 mutante en controle 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 hoogfrequente 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 een sociale interactie test, die gestoord is in Pcdh9 mutante muizen. Hiermee kunnen we een directe koppeling maken 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 zoals autisme spectrum disorder.

Titel studie: Early detection and effectiveness of early anti-inflammatory pain management in porcine experimental osteoarthritis

DEC nummer: 2014.I.11.085

Een studie naar het zo vroeg mogelijk opsporen en effectief behandelen van gewrichtsontstekingen en pijn bij het varken

Achtergrond: Kreupelheid is een belangrijk probleem bij varkens van alle leeftijden. De meest voorkomende onderliggende aandoening van kreupelheid is een ontsteking in het gewricht, osteoarthritis. Deze aandoening gaat gepaard met beschadigingen in het gewricht en met vaak continue pijn naast een stekende pijn bij bewegen. Dit naar analogie bij de mens, waar deze aandoening ook een grote groep mensen treft. Het in een zo vroeg mogelijk stadium onderkennen en behandelen van kreupelheid en pijn bij het varken is van groot belang voor het welzijn van de dieren in de varkenshouderij. Hiervoor is meer onderzoek nodig naar het ontstaan van de ontsteking en de overgang van acute ontsteking en pijn naar chronische gewrichtsveranderingen met chronische pijn. Behandeling is een vroeg stadium geeft een grotere kans op restloos herstel of tenminste het beheersbaar houden van het ziekteproces met voorkomen van chronische pijn, die slecht te behandelen is. Ook wanneer het varken als model voor aandoeningen bij de mens gebruikt wordt, is het van groot belang pijn bij het varken goed te kunnen meten en vervolgens effectief te kunnen behandelen. Dit zowel voor het varken als proefdier, ar ook voor een goede vergelijkbaarheid en voorspelbaarheid van mogelijk optredende pijn bij de mens (met bepaalde veel belovende behande-

lingsmogelijkheden). Volwassen mensen kunnen aangeven dat ze pijn hebben, hoeveel pijn ze hebben en waar ze pijn hebben. Hele jonge kinderen, dementerende patiënten en ook dieren kunnen dit niet. Het is daarom essentieel dat wij (dierenartsen voor dieren; artsen voor mensen) ook bij deze groep niet-verbale patiënten, aandoeningen met pijn vlot kunnen opsporen en de effectiviteit van de (pijn)behandeling kunnen evalueren. Dit is cruciaal omdat zowel onvoldoende pijnbehandeling als overbehandeling van pijn in ongewenste effecten kunnen resulteren. Bij het varken zijn tot op heden nog geen goede onderzoeken gedaan naar de pijnbeleving (bij osteoarthritis) en welke pijnbehandelingen dan effectief en adequaat zijn.

Doel/hypothese: Met deze studie willen we het verloop van opgewekte osteoarthritis bij het varken karakteriseren door met 4 objectieve onderzoeksmethoden verscheidene facetten van de ontwikkeling van de aandoening in de tijd te volgen. Hierbij combineren we de mate van kreupelheid, lokale overgevoeligheid bij aanraking van het gewricht en bereidheid om een obstakel parcours af te leggen om iets lekkers te bemachtigen. Tegelijkertijd evalueren we de effectiviteit van een langdurige behandeling van een pijnstillertje (een niet-steroïdale ontstekingsremmer of NSAID, in dezelfde groep als ibuprofen) in een gebruikelijke dosering met het voer op de aandoening en de pijnbeleving. Aan het eind van de studie evalueren we de mate van onaangenaamheid van de aandoening voor het individuele dier. Het dier kan dit aangeven door de testomgeving te vermijden waar de aangedane poot tel-

kens onderzocht is. Hiervoor zijn intacte wakkere proefdieren nodig en kan geen vervangend alternatief zonder het gebruik van proefdieren aangewend worden.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie worden 40 biggen gerekruteerd en verdeeld over 4 groepen van 10 biggen. Bij 2 groepen (totaal 20 biggen) wordt een steriele ontsteking in één gewricht opgewekt. Door dit onder gecontroleerde omstandigheden en bij alle dieren aan het zelfde gewricht te doen, krijgen we een uniforme groep dieren met gewrichtsontsteking. Hierdoor wordt een reductie verkregen in het aantal benodigde dieren en verfijning wat betreft de homogeniteit tussen dieren in vergelijking met een studie waarbij spontaan kreupele dieren (met onduidelijke oorzaak en locatie van de kreupelheid) gerekruteerd worden. Met deze studie evalueren we het gebruik van een mat met druksensoren, als objectieve vroeg-diagnostiek voor - en verloop over de tijd van - de kreupelheid bij het varken ten gevolge van opgewekte gewrichtsontsteking in één gewricht. Daarnaast vervolgen we het verloop van de aandoening over de tijd met de behandeling door een NSAID. Dit vergelijken we met een controle groep die geen behandeling met een NSAID krijgt. Hiermee kunnen we het effect van een tijdige behandeling op het voortschrijden van de aandoening en de gepaard gaande pijn beoordelen. Een vangnet met andere pijnstilling voor de controle groep in geval van ernstige pijn, als extra verfijning van de dierproef wordt gehanteerd. Om te controleren dat de effecten die we zien in de behandelde groep echt het gevolg zijn van de behandeling van de gewrichtsontsteking, wordt er ook een groep zonder gewrichtsontsteking behandeld met de NSAID. Mochten beide groepen

behandeld met de NSAID dezelfde effecten laten zien, dan weten we dat deze effecten niet volledig toegeschreven kunnen worden aan het effectief behandelen van de aandoening. Pijn is een complexe, subjectieve onaangename ervaring. Hoe de pijn uiteindelijk ervaren wordt is o.a. afhankelijk van de oorzaak, de geleiding van pijninformatie via pijnvezels naar het ruggenmerg en de uiteindelijke subjectieve verwerking in de hersenschors als onaangenaam gevoel. Het meten van activiteit van pijnvezels of van ruggenmerg activiteit (reflexen) alleen geeft daarom een onvolledig beeld. In deze studie wordt de effectiviteit van de behandeling bekeken door juist ook naar de pijnvaring (de emotionele en gedragsmatige componenten) te kijken. Het verzamelen van de data gebeurt binnen het dier met een negatieve controle (het gezonde andere voorbeen). Zo kan gecorrigeerd worden voor het temperament. Ook kan bij behandelde dieren geëvalueerd worden of de reactie van het zieke been weer vergelijkbaar wordt met het gezonde been. Door de voorbenen in afzonderlijke hokjes te onderzoeken is het mogelijk het dier achteraf aan te laten geven, of de aandoening als pijnlijk en vervelend is ervaren (en of de behandeling deze ervaring effectief heeft bestreden). Het dier zal in het eerste geval bij de keus tussen de twee hokjes vaker het hokje kiezen waar het gezonde been onderzocht is en in het laatste geval zal deze voorkeur verdwenen zijn.

Titel studie: Interventie tijdens adolescentie om ontwikkeling van schizofrene gedragingen te verminderen of te stoppen

DEC nummer: 2014.I.11.086

Interventie tijdens adolescentie om ontwikkeling van schizofrenie te stoppen

Achtergrond: Schizofrenie is een aandoening die de gemeenschap in Europa zo'n 97 miljard euro per jaar kost. Inmiddels is bekend dat meerdere traumatiserende factoren tijdens zwangerschap en in de jeugd leidt tot een gestage ontwikkeling van deze ziekte waarbij de eerste echte uitbarstingen tussen de 25^{ste} en 30^{ste} levensjaren plaatsvindt. Tijdens de adolescentie treden de eerste lichte symptomen op en in deze periode lijkt de ziekte nog omkeerbaar. Daarna niet meer.

Doel/hypothese: In deze studies wordt gekeken of met voedingssupplementen of medicijnen de ontwikkeling van gedragsafwijkingen kan worden geremd.

Globale aanpak vraagstelling: Zwangere muizen worden behandeld met een stof die bij de moeder en de foetus een immuunreactie veroorzaakt. Het brein van deze foetus zal zich nu anders gaan ontwikkelen en op volwassen leeftijd zal het gedragsveranderingen laten zien die als schizofreen-achtig gekenmerkt kunnen worden. In deze studie wordt op 2 manieren geprobeerd de ontwikkeling van deze afwijking te stoppen. Door enerzijds voedingssuppletie met niet-verteerbare vezels (pre-biotica, GOS en FOS) of farmacologisch en door toediening van een dagelijkse dosis Cannabidiol. Het cannabinoïde systeem in de hersenen, speelt een belangrijke rol tijdens de angstverwerking.

Angst is een belangrijke factor voor de ontwikkeling van schizofrenie, maar ook een belangrijk symptoom van de ziekte.

Titel studie: MR and GR expression, after early life stress and RU38486 treatment

DEC nummer: 2014.I.11.087

Mineralocorticoid en Glucocorticoïd receptor expressie na stress in de eerste fase van het leven, belang van glucocorticoïd receptor antagonist behandeling

Achtergrond: Het vroege perinatale leven is een kritische periode voor een individu. Niet alleen de kwaliteit van de embryonale omgeving maar ook de ervaringen van het ontwikkelende individu zijn hierbij van groot belang, in het bijzonder de ouder-kind relatie. Deze heeft invloed op emotionele en cognitieve ontwikkeling later in het leven. Eerder is al aangetoond dat de perinatale omgeving en postnatale ervaringen kwetsbaarheid voor psychopathologie en cognitieve functie in de volwassen leeftijd kunnen voorspellen. Chronische perinatale of jeugd-stress (bijv. een drugs- of alcohol verslaafde moeder, extreme armoede, verlies van een ouder, sociale verwaarlozing of misbruik) correleren met verhoogde incidentie van psychiatrische stoornissen, verstoorde cognitieve en geheugenfunctie en structurele veranderingen in de hippocampus (een belangrijk hersengebied voor het geheugen).

Doel/hypothese: In ons onderzoek naar de effecten van stress in de eerste fase van het leven maken we gebruik van ratten, waar de levensomstandigheden heel goed gecontroleerd kunnen worden. Wij hebben aangetoond dat een periode zonder de moeder (maternale deprivatie)

langdurig effect heeft op cognitie en geheugen. We willen de hypothese testen dat deze verandering in cognitie en geheugen van de maternaal gedepriveerde ratten wordt veroorzaakt door een tijdelijke verschuiving in receptor activatie (van mineralocorticoid naar glucocorticoïd receptoren) die een permanente verandering in een deel van de hersenen veroorzaken. Dit toetsen wij door een glucocorticoïd receptor antagonist aan te bieden. Hierdoor verwachten wij de balans tussen de mineralocorticoid en glucocorticoïd receptor weer te herstellen.

Globale aanpak vraagstelling: De dieren worden 3 dagen na de geboorte voor 24 uur van de moeder gescheiden. Vlak voor de puberteit (op dag 26-28) worden zij behandeld (proefdieren noodzakelijk is) met een glucocorticoïd receptor antagonist of een placebo. We verwachten dat in de groep die met glucocorticoïd receptor antagonist behandeld is de negatieve effecten van maternale deprivatie voorkomen kan worden. Deze handelingen zijn in mensen niet op deze manier mogelijk, enerzijds omdat een dergelijke controle over de omgeving niet gerealiseerd kan worden en anderzijds omdat dergelijke experimenten zich over tientallen jaren zouden uitstrekken. De inzichten die uit onze experimenten voortkomen kunnen op termijn mogelijk therapeutische toepassingen hebben. Als inderdaad door een farmacologische interventie de negatieve invloeden van de omgeving vroeg in de jeugd kunnen worden voorkomen, kan dit grote implicaties hebben. Gezien het maatschappelijke en wetenschappelijke belang van deze experimenten en het relatief geringe ongerief van de dieren vinden wij de experimenten ethisch aanvaardbaar.

Titel studie: Nieuwe modellen voor het opzetten van langdurige anhedonie

DEC nummer: 2014.I.11.088

Het opzetten van een diermodel voor anhedonie in ratten

Achtergrond: Niet alle mensen met een depressie hebben baat bij de huidige antidepressiva. Vooral mensen met een gebrek aan plezierbeleving (dit heet anhedonie en is een kernsymptoom van depressie) reageren vaak niet op de huidige antidepressiva (SSRIs-SNRIs). Ontwikkeling van een robuust diermodel voor depressie met langdurige anhedonie, dat meer rekening houdt met ontwikkeling van een depressie zoals die in mensen voorkomt (lange termijn-effecten, natuurlijke stress etc.) is hard nodig. Enerzijds weten we niet goed waarom de huidige antidepressiva niet bij iedereen werken, anderzijds weten we niet goed welke hersenmechanismen betrokken zijn bij langdurige anhedonie. Goede diermodellen waar langdurige anhedonie in bestudeerd kan worden zijn er nauwelijks.

Doel/hypothese: Wij willen een nieuw diermodel voor depressie opzetten met langdurige anhedonie om zo beter de onderliggende hersenmechanismen van depressie te kunnen bestuderen en nieuwe antidepressiva te detecteren.

Globale aanpak vraagstelling: Langdurig gebrek aan plezierbeleving is een belangrijk kenmerk van een depressieve toestand bij mensen. Om nieuwe medicijnen tegen depressie te ontwikkelen en om hersenmechanismen betrokken bij depressie beter te begrijpen hebben we nieuwe diermodellen nodig waarin we zo'n langdurige depressieve toestand proberen op te wekken. Dit proberen we op 2 manieren: ten eerste laten we een dier herhaald

verliezen van een dominante rat (denk bij de mens aan stelselmatig pesten op school of werk). We zullen in de dominante rat een hersengebied stimuleren dat betrokken is bij agressie waardoor de verliezer zal worden aangevalen. In deze verliezer zullen we de gevoeligheid van het beloningssysteem in de hersenen meten, want minder plezierbeleving lijkt gepaard te gaan met een minder actief beloningssysteem. We hopen dit effect langer te laten duren door deze dieren een aantal dagen na geboorte een tijdje bij hun moeder weg te halen, waardoor de hersenen later gevoeliger worden voor stress. Ten tweede onderzoeken we de gevoeligheid van het beloningssysteem in een dier waarin een darmontsteking wordt opgewekt. Het hebben van een chronische darmontsteking gaat bij de mens vaak gepaard met krijgen van een depressie. Door een prikkelend stofje in het drinkwater te doen zal een dier na verloop van tijd darmontsteking ontwikkelen. We meten gedurende deze ontwikkeling wat er met het beloningssysteem gebeurt. De inzet van proefdieren is noodzakelijk omdat het onethisch zou zijn om bij de mens chronische darmontsteking te laten ontwikkelen, of om een mens herhaaldelijk te laten verliezen of te laten pesten en vervolgens de hersenen eruit te halen voor vervolgonderzoek. Ook kunnen we niet nieuwe chemische stoffen direct testen in mensen met een depressie.

Titel studie: Practicum Screening
Psychofarmaca en Open Veld Test

DEC nummer: 2014.I.11.089

Screening psychofarmaca

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het doel van dit practicum is dat de student - aan de hand van eigen observaties - het gedragsprofiel vaststelt van een aantal belangrijke klassen van psychofarmaca. De student verdiept daarbij zijn/haar kennis van en inzicht in de werkingsmechanismen van de klassen van psychofarmaca waartoe de farmaca behoren. De student krijgt informatie over de mogelijkheden en moeilijkheden betreffende de ontwikkeling van nieuwe psychofarmaca en, tevens verwerft de student inzicht in het fenomeen biologische variatie. Als laatste geeft dit practicum de student de mogelijkheid in aanraking te komen met proefdieren en het proefdiergebruik.

Opzet van het onderwijsselement: De student zal in een groep van 2-3 studenten de gedragsprofielen van twee verschillende psychofarmaca (morfine, cafeïne, amfetamine, haloperidol, apomorfine of diazepam) en een placebo observeren in verschillende (eenvoudige) gedragstesten bij ratten.

Vergadering 3 december 2014

Titel studie: Bepaling immunologische
responsen in VPA-behandelde zwangere
muizen en dieetinterventie studie in
nakomelingen van VPA & controle muizen

DEC nummer: 2014.I.12.090

Het effect van een specifiek aminozuur dieet op de gedragsafwijkingen en immunologische responsen in een muizenmodel voor autisme

Achtergrond: Autismen 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. Een van deze omgevingsfactoren is het gebruik van het anti-epilepticum valproïnezuur (VPA) door moeders tijdens de zwangerschap. De kans op het ontwikkelen van autisme in de nakomelingen blijkt zeven keer groter te zijn bij moeders die tijdens de zwangerschap een monotherapie ondergaan met valproïnezuur. In ons vorig experiment hebben we laten zien dat prenatale blootstelling aan VPA bij muizen leidt tot sociale gedragsveranderingen die gerelateerd zijn aan autisme. Aangezien deze gedragsveranderingen door verscheidene groepen gepubliceerd is, wordt het VPA model gezien als een valide muizenmodel voor autisme. Naast gedragsafwijkingen zijn verstoorde immuun responsen een vaak voorkomend fenomeen bij autistische patiënten. Er wordt steeds vaker gesugge-

reerd dat afwijkingen in het immuunsysteem, met name in de darm, kunnen bijdragen aan de uiting van autistisch gedrag. Ongeveer 30% van de autistische populatie heeft maag-darmkanalen klachten. Uit ons eerste experiment hebben wij aanwijzingen verkregen dat er sprake is van een ontsteking in de darmen van de nakomelingen die prenataal behandeld zijn met VPA. Verhoogde activiteit van bepaalde neuro-immune eiwitten komt ook vaak voor bij diverse autistische muizenmodellen. Uit onze eerdere onderzoeken is gebleken dat specifieke aminozuren of aminozuur combinaties de activiteit van deze eiwitten kunnen onderdrukken.

Doel/hypothese: In dit experiment willen we onderzoeken of een postnatale behandeling met een specifiek dieet effect heeft op de gedragsafwijkingen en/of activatie van bepaalde neuro-immune eiwitten in de specifieke hersengebieden en darmen van de nakomelingen. Dit specifieke dieet bevat de aminozuren die onderdrukkend effect hebben op de activiteit van neuro-immune eiwitten. Daarnaast willen we de immunologische veranderingen onderzoeken in de placenta van VPA-behandelde zwangere muizen.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek maken we gebruik van een VPA-geïnduceerd muizenmodel voor autisme. Onze eerdere onderzoeken hebben al aangetoond dat de VPA-geïnduceerde autistische nakomelingen gedragsafwijkingen en ontsteking in de darmen vertonen. Daarom willen we in dit experiment verder onderzoeken wat het effect of van een specifiek aminozuur dieet op de gedragsafwijkingen en darmontsteking in de VPA-geïn-

duceerde autistische nakomelingen. Daarnaast willen we onderzoeken of er immunologische veranderingen zijn in de placenta van VPA-behandelde zwangere muizen

Titel studie: Valideren en testen van de phenotyper gedragsopstelling

DEC nummer: 2014.I.12.091

Valideren en testen van de phenotyper gedragsopstelling

Achtergrond: Met deze opstelling kunnen we automatisch gedrag meten en opnemen. De dieren kunnen langere tijd (dagen) gevolgd worden aangezien dieren gehuisvest kunnen worden in deze opstelling.

Doel/hypothese: Het operationeel maken en het testen van een nieuw aangeschafte geautomatiseerde gedragsopstelling. Met deze opstelling kunnen we informatie krijgen over het welbevinden van het dier door het meten van spontane gedragingen gedurende dag en nacht. Dit experiment is bedoeld om eigenhandig ervaring op te doen met de nieuwe apparatuur.

Globale aanpak vraagstelling: De dieren (ratten) worden enige tijd in de opstelling geplaatst zodat deze operationeel gemaakt en getest kan worden

Titel studie: Role of the transcription factors Sox4 and FoxP1 in neural stem cell transplantation after neonatal hypoxic-ischemic brain damage

DEC nummer: 2014.I.12.092

De rol van transcriptie factoren Sox4 en FoxP1 in neurale stam cel transplantatie na neonatale hypoxisch-ischemische hersenschade

Achtergrond: 2000 pasgeborenen in Nederland maken rond de geboorte een ernstige mate van zuurstofgebrek (hypoxie-ischemie (HI)) door. Op dit moment zijn er geen effectieve behandelingsmogelijkheden om de hersenschade te repareren. Kennis van de repareer-processen in de hersenen na HI zijn belangrijk voor het opzetten van een gerichte beschermende therapie. Neurale stamcellen (NSC) zijn cellen in het brein die nieuwe zenuwcellen kunnen vormen. In deze studie zullen we bekijken of het geven van extra NSC de hersenschade na HI kan repareren en welke rol de transcriptie factoren Sox4 en FoxP1 spelen in het uitrijpen van deze stamcellen naar nieuwe zenuwcellen.

Doel/hypothese: Doel van deze studie is te onderzoeken of muizenpups die na HI behandeld worden met NSC, minder hersenschade en minder motorische afwijkingen hebben dan muizen die behandeld worden met oplosmiddel. In meer detail wordt er gekeken of NSC die een bepaalde transcriptie factor (Sox4 of FoxP1) missen, de hersenschade juist beter/slechter kunnen repareren. Globale aanpak vraagstelling: Het zuurstofgebrek in de hersenen wordt nagebootst in pasgeboren muizen. De muizen worden 10d na het zuurstofgebrek hierna be-

handeld met de NSC of NSC zonder Sox4 of FoxP1, of als controle met het oplosmiddel. Allereerst kijken wij op 46 dagen na het geven van de NSC (56d na HI) of de hersenschade verminderd is (gerepareerd) en of de motoriek en cognitie van de dieren verbeterd is. Verder kijken wij op 5 dagen na de NSC gift of de NSC nieuwe voorloper-zenuwcellen hebben gevormd. Omdat HI hersenschade een complex proces is wat ontstaat door meerdere systemen. t.w. bloedcirculatie, de bloed hersenbarrière en het immuunsysteem, is het niet mogelijk het HI hersenschade proces na te bootsen met in vitro systeem. Omdat ook het gedrag van de dieren (motoriek) bestudeerd wordt, is het gebruik van het intacte dier onoverkomelijk.

Titel studie: Rol van Cannabinoid (CB) 1 receptoren bij Prepulse Inhibitie

DEC nummer: 2014.I.12.093

De rol van het endocannabinoïde systeem in het brein tijdens pre puls inhibitie bij de rat

Achtergrond: Het endocannabinoïde systeem is genoemd naar de stof Cannabis, die voor een groot deel via dit systeem in het brein zijn werking heeft. (Een deel van) de pijnstillende werking van paracetamol wordt ook via dit systeem bewerkstelligd. Behalve pijnstillende effecten, worden effecten op angstprocessen en informatieverwerking toegeschreven aan dit endocannabinoïde systeem. Invaliderende aandoeningen zoals bijvoorbeeld Schizofrenie, Autisme, Alzheimer en Bipolaire stoornissen kenmerken zich door o.a. veranderingen in de informatieverwerking. Informatieverwerking is meetbaar met een pre puls inhibitie test. We werken samen met een humane

onderzoeksgroep. Eén van de beperkingen van humaan onderzoek is het gebruik van experimentele stoffen. We hebben een aantal cannabinoïde stoffen, waarvan bekend is dat het systeem geactiveerd of juist geremd wordt. Door deze stoffen in dieren in de pre puls inhibitie test te bestuderen, zouden we veel informatie kunnen krijgen over de rol van het cannabinoïde systeem in het informatieverwerkingsproces. Door de humane en dier-experimentele studies zo veel mogelijk op elkaar af te stemmen, hopen we waardevolle, uitwisselbare data te vinden. En uiteindelijk dichterbij een efficiëntere behandeling van bovengenoemde aandoeningen te kunnen komen. Doel/hypothese: Uitzoeken wat de rol van het Endocannabinoid systeem is tijdens informatieverwerking, met name een verstoorde informatieverwerking. Globale aanpak vraagstelling: Een manier om informatieverwerking te meten is met behulp van de prepuls-inhibitie test. In deze test worden korte (50msec) harde geluiden (pulsen, 100dB), voorafgegaan (80 msec eerder) door een nauwelijks hoorbaar geluid (pre-pulsen, 3-12 dB boven achtergrond geluid, 20 msec)). De schrikreactie wordt gemeten (spiertrekking, die bij mensen met elektrodes in het gezicht worden gemeten en bij dieren wordt de hele lichaamsbeweging gemeten (door een instrumentje (electropiëzo element) onder de grondplaat van de opstelling). De prepuls zal bij een gezond persoon/dier ervoor zorgen dat de reactie op de eigenlijke puls veel lager is. Als de informatieverwerking verstoord is, zal het effect van een prepuls veel lager worden. In deze studie willen we met dieren (ratten) werken omdat er bij mensen (nog) niet gewerkt mag worden met experimentele stoffen. De ernst van aandoeningen als Schizofrenie, Autisme, Alzheimer

en Bipolaire stoornissen, maar ook de grote hoeveelheid mensen die lijden aan een aandoening met een veranderde informatieverwerking, maakt het doen van onderzoek naar efficiëntere behandelingen noodzakelijk.

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

DEC nummer: 2014.I.12.094

Identificatie van miRNAs en hun targets die effect hebben op de ontwikkeling van het zenuwstelsel

Achtergrond: MicroRNAs zijn kleine moleculen die de hoeveelheid van specifieke eiwitten die er in een cel zitten reguleren, en 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 er 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 muizen voor verschillende experimenten gebruiken, corresponderend met de verschillende werkprotocollen. 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 willen op twee verschillende tijdstippen na de operatie de effecten van de microRNAs bekijken, nl. net voor en een paar dagen na de geboorte. We kunnen zo bekijken hoe specifieke zenuwbanen worden gevormd onder invloed van de microRNAs en hoe de eiwitten die ze reguleren zich ontwikkelen. Als voorstudie hiervoor willen we een experiment doen waarbij de injectie van microRNA in de embryo's gebeurt na isolatie van die embryo's. 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 RNA en eiwit kleuringen doen om te kijken waar de microRNAs en de eiwitten die gereguleerd worden door de microRNAs in het brein voorkomen.

Titel studie: Het combineren van optogenetics, neuronale recordings en farmacologie om neuronale circuits te ontleden die betrokken zijn bij het maken van voedselkeuze

DEC nummer: 2014.I.12.095

Het manipuleren van hersencircuits betrokken bij voedselkeuze

Achtergrond: De hersenen spelen een grote rol bij het eetgedrag van mens en dier. Of, wat en hoelang wordt gegeten wordt bepaald door een dynamische samenwerking tussen vele hersengebieden. Op hun beurt zijn er verschillende factoren binnen en buiten het lichaam die deze hersengebieden beïnvloeden, zoals honger, de beschikbaarheid van eten en de aanwezigheid van reclame. Ondanks de grote maatschappelijke impact van obesitas, weten we op het moment te weinig over de oorzaken om eetproblemen effectief aan te pakken. In dit onderzoek willen we eetgedrag van dieren onderzoeken door het manipuleren van specifieke circuits in het brein die betrokken zijn bij beloning, motivatie en energiebalans.

Met moderne technieken zijn we in staat om bepaalde celgroepen voor korte tijd te (in)activeren, en hiermee het belang van deze cellen bij voedselinname te bepalen. Doel/hypothese: Het doel van het experiment is om celgroepen en hersengebieden te (in)activeren, om zo het keuzegedrag van dieren in een gedragstaak te beïnvloeden. Daarnaast gaan we de relatie tussen activiteit in bepaalde hersencellen en eetgedrag bepalen. Hiermee willen we breinverbindingen vinden die mogelijk verstoord zijn bij ongezond eetgedrag.

Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek willen we een nieuwe gedragstaak ontwikkelen voor ratten die aan kan geven wat bijdraagt aan ongezonde voedselkeuze. Ratten zullen op deze taak getraind worden waarbij zij beloningen kunnen verdienen. Door het manipuleren van bepaalde delen van het brein (met technieken die optogenetics en DREADD worden genoemd) willen we de keuze voor een bepaald voedsel veranderen. Daarnaast willen we hersenactiviteit meten tijdens deze gedragstaak en voedselinname in het algemeen, om te kijken of er patronen in te vinden zijn die ons kunnen helpen bij het begrijpen van ongezond eetgedrag.

Titel studie: De rol van het intermediate filament cytoskelet in glioma invasie

DEC nummer: 2014.I.12.096

De rol van het skelet van de tumorcel in uitzaaiingen van hersentumoren

Achtergrond: Glioma is de verzamelnaam voor hersentumoren die ontstaan uit een specifiek celtype in het brein, glia cellen, en deze tumoren nemen vaak zeer ernstige

vormen aan. Gliomas ontstaan bij mensen op een relatief jonge leeftijd, gemiddeld tussen de 45 en 70 jaar afhankelijk van het soort glioma, de oorzaak is onbekend en er is geen genezend medicijn beschikbaar. De prognose van patiënten met de meest voorkomende en meest agressieve vorm van een glioom (60-70% van alle glioma) is slecht en patiënten overleven na diagnose maximaal 15 maanden. De tumor wordt vaak chirurgische verwijderd, en daarna volgt nog een bestraling en chemotherapie met Temozolomide. Helaas leidt dit niet tot genezing en komt de tumor bijna altijd weer terug. Het achterblijven van cellen die niet op de behandeling reageren en niet chirurgisch verwijderd zijn leidt tot uitzaaiingen en het ontstaan van nieuwe tumoren in het brein. Dit is het grootste probleem bij de behandeling van gliomas en is de oorzaak van een slechte prognose. Tumorcellen verlaten de primair gevormde tumor, migreren door het brein, en vormen in andere delen van de hersenen nieuwe tumoren. Hoe tumorcellen door het brein migreren en welke moleculaire mechanismen dit proces reguleren is niet duidelijk. Meer kennis is nodig over dit proces om een effectieve behandeling te kunnen ontwikkelen. Recente studies beschrijven een mogelijke rol van de structuur van een tumorcel bij de migratie van tumorcellen naar andere gebieden in de hersenen. Verandering in deze structuur zorgt er voor dat een tumorcel beter of slechter door zijn omgeving in de hersenen kan migreren en de mate van uitzaaiing beïnvloed. Het bestuderen van de invloed van de structuur van een tumorcel en het in kaart brengen van het verschil in de structuur van tumorcellen die goed of slecht door hun omgeving kunnen migreren zal leiden tot de identificatie van specifieke eigenschappen van de structuur en de

ontwikkeling van therapieën die kunnen ingrijpen op deze structuur. Ontwikkeling van therapieën zal voorkomen dat tumorcellen door het brein migreren en na behandeling nieuwe tumoren vormen.

Doel/hypothese: Een gespecialiseerde celstructuur is nodig voor de migratie van een tumorcel door het brein en het vormen van nieuwe tumoren in andere hersengebieden. Wij bestuderen de gespecialiseerde celstructuur en identificeren eigenschappen van de structuur die nodig zijn voor de migratie van een tumorcel. Deze kennis zal leiden tot de identificatie van nieuwe therapeutische targets en zal bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe therapeutische middelen die terugkeer van glioma na behandeling kunnen voorkomen.

Globale aanpak vraagstelling: Om het verspreiden van tumorcellen naar verschillende hersengebieden te kunnen bestuderen maken we gebruik van in kweek gebrachte plakjes van muizenhersenen. De complexe samenstelling van het menselijke brein waarin tumorcellen zich verspreiden is op deze manier goed na te bootsen. De samenstelling van het brein met de aanwezigheid van een grote variëteit aan type cellen en structuren tussen deze cellen is zo complex dat los groeiende cellen of een alternatieve methode helaas niet representatief zijn voor het menselijke brein. Het is daarom noodzakelijke gebruik te maken van een muis model.

Titel studie: Gevolgen van subarachnoïdale bloedingen op glia activatie, neuronale activiteit en cognitie

DEC nummer: 2014.I.12.097

Gevolgen van hersenbloedingen op hersenactiviteit

Achtergrond: Een subarachnoïdale bloeding is een ernstige aandoening die vooral optreedt bij relatief jonge mensen tussen de 40 en 60 jaar oud. Het wordt veroorzaakt door het knappen van een zwakke uitstulping (aneurysma) op een slagader in het hoofd. Patiënten met een subarachnoïdale bloeding hebben een grote kans hieraan te overlijden of een blijvende handicap hieraan over te houden. De belangrijkste determinanten van een slechte klinische uitkomst na een subarachnoïdale bloeding zijn vroege hersenschade en secundaire cerebrale ischemie (=zuurstoftekort in de hersenen). De vroege hersenschade treedt op na het moment van de bloeding en secundaire cerebrale ischemie 4-14 dagen na de bloeding. Op dit moment bestaat er geen behandeling voor vroege hersenschade. Secundaire cerebrale ischemie kan voorkomen worden door nimodipine, het effect hiervan is echter beperkt. Daarom zijn er nieuwe medicijnen nodig om secundaire ischemie te voorkomen en behandelen. Het is niet exact duidelijk hoe secundaire cerebrale ischemie ontstaat, maar er komt steeds meer bewijs dat gliacel activatie in het brein een belangrijke rol speelt. Dit leidde tot het ontwerpen van experimenten, waarbij onderzocht zal worden of subarachnoïdale bloedingen de functie van gliacellen kunnen beïnvloeden en welke gevolgen dit zal hebben op het functioneren van het brein. Een beter begrip van het ontstaan van secundaire cerebrale ischemie verhoogt de

kans dat er een behandeling zal worden gevonden om de prognose van deze groep patiënten te verbeteren.

Doel/hypothese: Hersenschade ten gevolge van subarachnoïdale bloedingen zal veranderingen teweeg brengen in biologische processen tussen de verschillende cellen in het brein. Wij brengen deze gevolgen in kaart en zullen daar therapieën tegen ontwikkelen om de kwaliteit van leven na een subarachnoïdale bloeding te verbeteren.

Globale aanpak vraagstelling: Voor het in kaart brengen van de verandering in hersenactiviteit en biologische processen tussen de verschillende hersencellen na een subarachnoïdale bloeding maken we gebruik van een muismodel. Dit model zal het ziektebeeld in mensen zo goed mogelijk nabootsen. Het ziektebeeld is zeer complex en het is helaas niet mogelijk de veranderingen in de hersenen te meten in los groeiende cellen of een ander alternatieve methode. Het is daarom noodzakelijk gebruik te maken van dit muismodel. We gaan op zowel macroscopische als microscopische wijze de hersenveranderingen observeren om er achter te komen wat een subarachnoïdale bloeding teweegbrengt. De grote veranderingen meten we met niet invasieve scans van het brein en observeren we het gedrag. Ook zoomen we in op de cellen in het brein en meten we de fysiologie en functies van die cellen.

Titel studie: Fok: SOD1-G93A

DEC nummer: 2014.I.12.098

Achtergrond/doel: De transgene muizen worden gebruikt in het kader van onderzoek naar amyotrofische laterale sclerose (ALS). ALS is een ernstige progressieve ziekte waarbij de motorische neuronen afsterven wat zwakte

in spieren tot gevolg heeft. De klinische verschijnselen zijn paralyse, moeite met spraak en slikken en uiteindelijk overlijden ALS patiënten gemiddeld na 3 jaar, meestal aan de gevolgen van respiratoire insufficiëntie. Tot op heden is er geen effectieve therapie voor ALS. Hoewel er in de meeste ALS gevallen op zich lijken te staan, komt het in sommige families vaker voor. Ongeveer 20% van die familiale ALS gevallen is een mutatie in het SOD1-gen verantwoordelijk voor de ziekte. Deze patiënten zijn echter op klinisch en neuropathologisch niveau nauwelijks te onderscheiden van patiënten zonder mutatie. Muizen die het gemuteerde (humane) SOD1-gen tot expressie brengen, ontwikkelen een fenotype dat sterk lijkt op humaan ALS en worden daarom veel gebruikt als model voor ALS; degeneratie van motorische neuronen, verlamming, maar ook op moleculair niveau zijn er veel overeenkomsten met humaan ALS. Rond dag 90 ontwikkelen deze dieren een spierzwakte in de achterpoten wat uiteindelijk leidt tot verlammingverschijnselen rond de 110 dagen. Later ontwikkelt zich ook zwakte aan de voorpoten. Binnen onze onderzoeksgroep wordt dit muismodel gebruikt om een beter inzicht te krijgen in de pathogenese van ALS. Ook worden de dieren gebruikt voor het testen van potentiële medicatie voor toekomstige klinische trials.

Titel studie: Lange termijn inhibitie van VTA dopamine signalen in associatief gedrag

DEC nummer: 2014.I.12.099

Onderzoek naar de functie specifieke hersencellen die betrokken zijn bij beloning van eet gedrag

Achtergrond: De hersenen bestaan uit verschillende gebieden die bij betrokken zijn bij het vormen van gedrag. Een voorbeeld hiervan is het beloningsstelsel, 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 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: Characterization of changes in miRNA expression, distribution and function in TLE

DEC nummer: 2014.I.12.100

De identificatie van genen en mechanismen betrokken bij temporaalkwab epilepsie bij muizen

Achtergrond: Temporaalkwab epilepsie (temporaalkwab=specifiek deel van de hersenen) is een ernstige neurologische ziekte, ongeveer 30% van de patiënten reageert niet op medicijnen. Voor hen is verwijderen van de epilepsie haard (deel van het brein dat de epilepsie veroorzaakt) het laatste redmiddel. Epilepsie is een ziekte met een hoge sterfte. De onvoorspelbaarheid van aanvallen heeft een grote invloed op de bewegingsvrijheid en veiligheid van de patiënt. Bovendien kan voortdurende epileptische activiteit in de hersenen schade aanrichten, die leidt tot verlies aan verstandelijke vermogens en een grote impact op het sociale welbevinden van de patiënt. Een beter begrip van de mechanismen die ten grondslag liggen aan het ontstaan en het progressieve karakter van de ziekte kunnen bijdragen aan de vroege diagnose en een beter behandeling.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is inzicht te krijgen in de rol van "miRNAs", kleine stukjes RNA die de expressie van genen reguleren, in het reguleren van de moleculaire processen tijdens het ontstaan van epilepsie. Onze hypothese is dat miRNAs een cruciale rol spelen bij

het orkestreren van de complexe veranderingen die optreden tijdens dit proces. Daartoe zullen we veranderingen in miRNA expressie, verdeling en functie bestuderen tijdens het ontstaan en de progressie van temporaalkwab epilepsie in een uniek en goed gekarakteriseerd muismodel. Aangezien er veel tools beschikbaar zijn voor het manipuleren van de expressie van miRNAs in vivo, zal dit onderzoek niet alleen bijdragen tot beter begrip van de onderliggende pathologische mechanismen, maar ook tot het ontwikkelen van nieuwe diagnostische en behandelingsstrategieën.

Globale aanpak vraagstelling: miRNAs reguleren de expressie van ca. 60% van alle genen. Zo speelt miRNA gemedieerde genregulatie een cruciale rol tijdens de ontwikkeling van een groot aantal organen, waaronder de hersenen. Ook in volwassen hersenen spelen miRNAs een belangrijke rol. In al gepubliceerd vooronderzoek hebben wij ontdekt dat verschillende miRNAs ontregeld zijn in hersenweefsel van epilepsie patiënten. Wij hebben aangetoond dat deze ontregeling leidt tot veranderde expressie van eiwitten die een cruciale rol spelen in de functie van zenuwcellen. Hoe deze ontregeling ontstaat en welke mechanismen hierbij een rol spelen, kunnen we natuurlijk niet onderzoeken bij patiënten. Daarom willen we gebruik maken van een goed gekarakteriseerd diermodel. Het betreft een veelgebruikt muismodel. In dit diermodel wordt door een lokale injectie van kainaat in de hersenen het ziekteproces opgewekt. Dit proces lijkt sterk op dat bij patiënten. Zo treden er herhaalde spontane aanvallen op, en ook de cellulaire en moleculaire veranderingen lijken sterk op die bij patiënten. Experimenten: in deze muizen zullen we de verandering

in miRNA expressie (en hun doelwit) in de tijd volgen. Op basis van deze gegevens zullen we de belangrijkste ontregelde miRNAs identificeren. Ten slotte zullen we onderzoeken of we het ziekteproces kunnen vertragen of stoppen door in vivo te interfereren met de ontregeling van miRNA expressie.

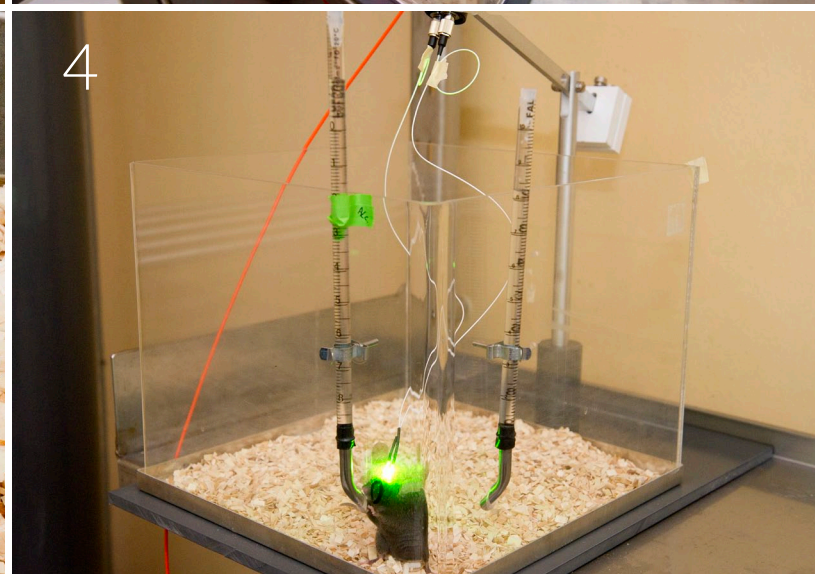
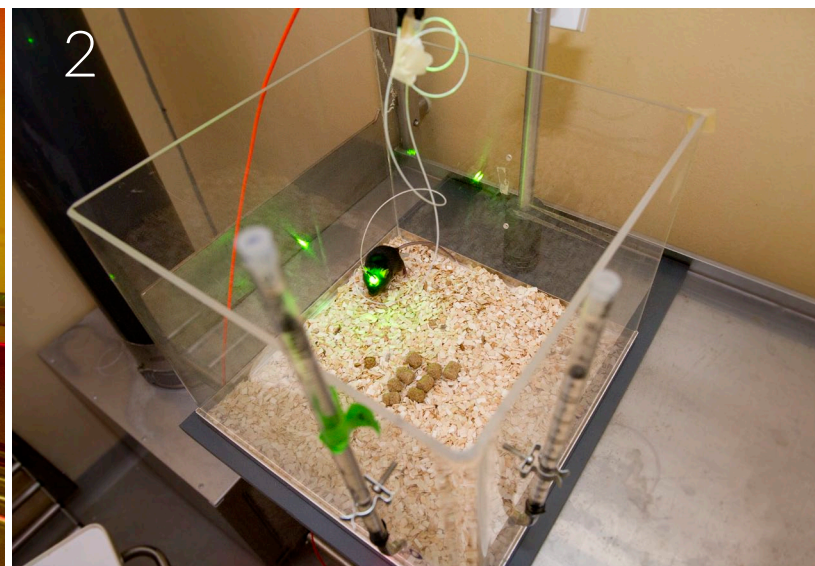
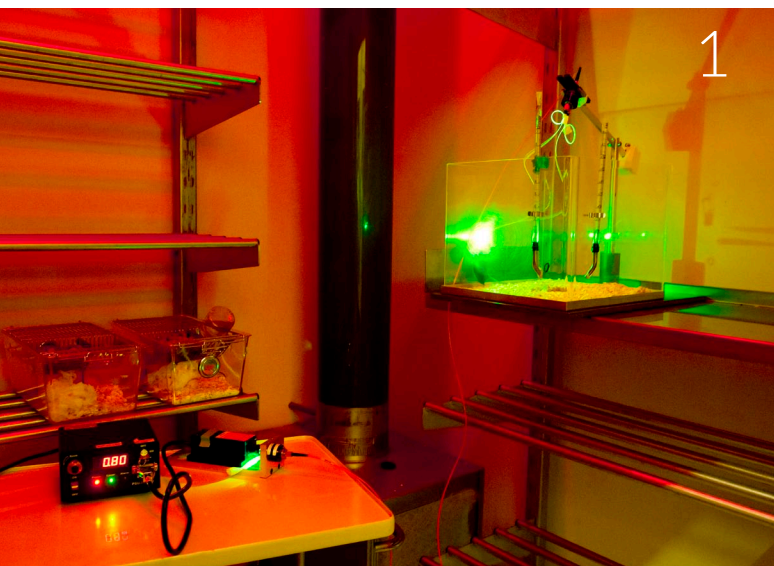
Titel studie: Fysiologie en functie van LepR neuronen in LH en VTA

DEC nummer: 2014.I.12.101

Onderzoek naar de functie van specifieke hersencellen die betrokken zijn bij eetgedrag en overgewicht

Achtergrond: De hersenen bestaan uit verschillende gebieden die betrokken zijn bij het vormen van gedrag. Een aantal van deze gebieden zijn betrokken bij eetgedrag. In het huidige onderzoek kijken wij naar specifieke energiebalans gevoelige hersencellen in deze hersengebieden. Door te onderzoeken hoe deze hersencellen in een netwerk verbonden zijn, en wat er gebeurt als deze hersencellen aan of dit worden gezet, ontstaat er een beter begrip van de hersenwerking die voor eetgedrag zorgt. Omdat deze cellen bij energie balans betrokken zijn zullen we bovendien een beter beeld krijgen van hoe de hersenen veranderen bij verstoringen van eetgedrag, zoals bijvoorbeeld in obesitas.

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: Muizen worden geopereerd en behandeld, waarnaar hersencellen die betrokken zijn bij eetgedrag en energiebalans gevoelig gemaakt worden voor licht. Hierna wordt er getest wat de gevolgen zijn van het activeren van deze hersencellen. Ook worden er elektrische stroompjes in deze en naburige hersencellen gemeten, om zo te bepalen in wat voor functioneel netwerk deze hersencellen verbonden zitten.

Foto 1 (links-boven): Testopstelling in een donkere kamer omdat muizen 's nachts' actief zijn.

Foto 2 t/m 4: Muizen worden geopereerd en behandeld, waarbij hersencellen in het beloningssysteem gevoelig worden gemaakt voor licht. Met behulp van laserlicht kunnen specifieke neuronpopulaties of specifieke anatomische projecties ge(in)activeerd worden in vrij bewegende muizen. Hierdoor is het mogelijk om de invloed van specifieke neuronen, hersengebieden en projecties in de hersenen op o.a. beloning en belonend gedrag in kaart te brengen.

Titel studie: Novel mouse genetics approaches for dissecting dopaminergic pathway development and disease

DEC nummer: 2014.I.12.102

Nieuwe genetische benadering in muizen voor het onderscheiden van banen van dopamine positieve zenuwcellen tijdens hun ontwikkeling en tijdens ziekte

Achtergrond: Dopamine positieve zenuwcellen in de middenhersen zijn betrokken bij automatische bewegingen, regulatie van emoties en beloning, zij worden in verband gebracht met verschillende psychiatrische ziekten en neuronale degeneratieve ziekte (zoals in schizofrenie en Parkinson). De dopamine positieve zenuwcellen in de middenhersen, worden grofweg verdeeld in twee anatomisch en functioneel verschillende groepen. Deze groepen heten de substantia nigra (SNc) en ventral tegmental area (VTA). Zij maken zeer precieze connecties met verschillende andere hersengebieden (zoals de hersenschors in de grote hersenen). De mechanismes die zorgen voor de ontwikkeling van de zenuwbanen van deze twee dopamine positieve zenuwcel groepen en hun rol bij de ontwikkeling van ziektes, zijn van grote interesse. Helaas is er echter nog weinig kennis over deze zenuwbanen door het ontbreken van technieken om deze zenuwbanen grondig te bestuderen en te manipuleren in een diemodel. Met behulp van onze unieke muislijnen, waarin de zenuwcellen van de dopamine positieve hersengebieden apart van elkaar worden gekleurd (d.m.v. fluorescentie), willen we de ontwikkeling van deze dopamine cellen en hun connecties in meer detail bestuderen.

Doel/hypothese: Met behulp van onze unieke muislijnen

((ITC-gFlp and ITC-Nrp2) willen we belangrijke aspecten van dopamine cellen bestuderen. Allereerst willen we met behulp van een muislijn die specifiek gelabelde dopamine cellen heeft de uitgroei van dopamine zenuwuitlopers bestuderen en kijken hoe die uitlopers naar hun target-locatie toe groeien. Daarna willen we dit zien met behulp van een muislijn waarin slechts enkelen van deze cellen gelabeld zijn.

Globale aanpak vraagstelling: Het doel van deze studie is het volgen van de ontwikkeling van subpopulaties en of enkele dopamine cellen in het brein. Dit doen we in drie verschillende stappen:

1. Identificatie en karakterisatie van eiwitten belangrijk zijn voor de regulatie van de groei van signaal-zendende zenuwuitlopers (axonen) naar hun target locatie.
2. Identificatie en karakterisatie van eiwitten die belangrijk zijn voor de regulatie van de groei van signaal-ontvangende zenuwuitlopers (dendrieten).
3. Volgen van de ontwikkeling van enkele dopamine cellen in het brein met behulp van een unieke muislijn.

We willen de ontwikkeling van hele specifieke subsets van dopamine cellen willen bestuderen. Vanwege de complexiteit van dit systeem zijn cellijnen ongeschikt. We hebben in ons laboratorium unieke muislijnen ontwikkeld die specifiek in deze subsets fluorescent gekleurde eiwitten hebben, waardoor we de ontwikkeling nauwkeurig kunnen volgen. We willen de specifieke dopamine cellen los in kweekbakjes kweken, de ontwikkeling van de systemen volgen en manipuleren in gekweekte hersenplakken, en eiwitten die deze ontwikkeling mogelijk reguleren kleuren in gefixeerde hersenplakjes. Hiervoor gebruiken we muizen van verschillende leeftijden variërend tussen

embryonale dag 12 tot volwassen dieren. De dieren worden snel gedood door ervaren onderzoekers en we gebruiken de hersenen voor onze verschillende experimenten.

Titel studie: De rol van ataxine-2 in ALS

DEC nummer: 2014.I.12.103

De rol van ataxine-2 in ALS

Achtergrond: Amyotrofe laterale sclerose is één van de ernstigste progressieve aandoeningen van het zenuwstelsel. Ongeveer 1500 personen in Nederland hebben ALS. ALS kan op elke volwassen leeftijd voorkomen maar de meeste mensen zijn tussen de 40 en 60 jaar als de ziekte begint. ALS is een ziekte waarbij de motorische zenuwcellen in het ruggenmerg en de hersenen, die de spieren moeten aansturen, langzaam afsterven waardoor zwakte ontstaat. De ziekte is progressief en uiteindelijk raakt de patiënt volledig verlamd en bedlegerig. Vijftig procent van de patiënten overlijdt binnen drie jaar na het ontstaan van de eerste zwakte, meestal ten gevolge van een verminderde ademhaling door verlamming van de ademhalingsspieren. De oorzaak van ALS is grotendeels onbekend. Op dit moment is er geen behandeling voor ALS beschikbaar die de progressieve zwakte kan stoppen of genezen. Er is een medicijn, Riluzole, wat de mate van achteruitgang wat kan afremmen waardoor de overleving met 3 tot 6 maanden verlengd wordt. In de afgelopen jaren zijn een flink aantal veranderingen in het erfelijk materiaal (=de genen) ontdekt die ALS veroorzaken. Hoewel dit belangrijke kennis heeft opgeleverd over de ziekte, bemoeilijkt deze grote verscheidenheid

in erfelijke veranderingen de ontwikkeling van een effectieve ALS therapie. Naast genetische veranderingen die ALS veroorzaken zijn er ook veranderingen in genen bekend die het risico op ALS vergroten en/of het ziektebeloop beïnvloeden. Deze genetische veranderingen worden risicofactoren genoemd. Een van de belangrijkste risicofactoren die nu bekend zijn is ataxine-2. Omdat ataxine-2 de nadelige eigenschappen van een aantal andere ALS genen versterkt, zou een therapie gericht op ataxine-2 effectief kunnen zijn voor een breed spectrum van ALS patiënten. Celbiologische experimenten hebben aangetoond dat ataxine-2 de nadelige effecten van TDP-43 versterkt. TDP-43 speelt een belangrijke rol in de ziekte ALS, omdat veel patiënten ophopingen van het TDP-43 eiwit in de motorische zenuwcellen hebben. Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het vergroten van de kennis over de rol van ataxine-2 in ALS, onder meer door het pathogene effect van ataxine-2 op het ALS gen TDP-43 te onderzoeken.

Globale aanpak vraagstelling: Om meer te weten te komen over de rol van ataxine-2 binnen ALS willen we een ataxine-2 ALS muismodel ontwikkelen, waarbij muizen de humane ALS variant van ataxine-2 tot expressie brengen. Vervolgens willen we dit muismodel gebruiken om het effect van ataxine-2 op TDP-43 op te helderen. Om dit te onderzoeken willen de ataxine-2 ALS muizenlijn kruisen met een TDP-43 ALS muismodel. Dit muismodel heeft een zeer milde vorm van ALS en is daarom geschikt om de invloed van humaan ataxine-2 op TDP-43 te onderzoeken. Dit willen we onderzoeken door het gedrag van de muizen te analyseren en de motorische zenuwcellen van deze muizen in detail te bestuderen.

De ontwikkeling en karakterisering van muismodellen is belangrijk binnen het ALS onderzoek, omdat het zeer gecompliceerd dan wel zo goed als onmogelijk is om de motorische zenuwcellen van mensen te onderzoeken, omdat deze zich in het ruggenmerg bevinden. Beschadiging van het ruggenmerg heeft direct complicaties tot gevolg. Het is mogelijk om in het lab zenuwcellen met motorische eigenschappen te ontwikkelen uit huidcellen van mensen. Dit is een gecompliceerd proces met als resultaat een sterk vereenvoudigde weergave van de werkelijkheid, omdat in dit geval alleen jonge zenuwcellen onderzocht kunnen worden die in een kweekschaal groeien, terwijl de ziekte ALS voornamelijk aangrijpt op motor neuronen in het volwassen ruggenmerg. Daarom biedt de ontwikkeling van een ataxine-2 ALS muismodel een unieke mogelijkheid om meer kennis te vergaren over de rol van ataxine-2 in ALS en zal dit model in de toekomst gebruikt kunnen worden om ALS therapieën te testen die aangrijpen op ataxine-2.

Titel studie: Herstelt memantine, een geregistreerd medicijn voor de behandeling van de ziekte van Alzheimer, de disfunctionele bedrading van de hersenen die kenmerkend is voor compulsiviteit

DEC nummer: 2014.I.12.104

Herstelt memantine, een geregistreerd medicijn voor de behandeling van de ziekte van Alzheimer, de disfunctionele bedrading van de hersenen die kenmerkend is voor compulsiviteit

Achtergrond: Compulsiviteit wordt gekarakteriseerd door een herhalende, onweerstaanbare drang bepaald gedrag uit te voeren. Het is een aandoening die in meerdere ziektebeelden voorkomt zoals autisme, obsessief-compulsieve stoornis en in allerlei vormen van verslavingen. In een groter Europees consortium (TACTICS), waarvan deze aanvraag een onderdeel van is, wordt onderzoek gedaan naar de karakterisatie van compulsiviteit en wordt gezocht naar nieuwe veelbelovende therapieën. Het is bekend dat tijdens compulsiviteit de verbindingen in de hersenen verstoord zijn. Vooral de verbindingen tussen de frontale cortex en de striatale structuren (meer basaal gelegen structuren in de hersenen) laten duidelijke afwijkingen zien. De traditionele behandeling van compulsiviteit richt zich op het zogenaamde serotoninesysteem. Serotonine is een belangrijke neurotransmitter van het fronto-striatale netwerk. Een goed voorbeeld van een traditionele behandeling is fluoxetine (Prozac), wat de heropname van serotonine blokkeert. Helaas blijkt echter ook dat dit soort geneesmiddelen bij een aanzienlijk deel van de patiënten niet goed werkt. Glutamaat, een andere neurotransmitter,

is ook een belangrijke speler betrokken bij het disfunctioneren van het fronto-striatale circuit. Een verhoogde aanwezigheid van glutamaat is gekoppeld aan de ernst van compulsiviteit. In deze studie zal worden getest of memantine, een geneesmiddel dat de werking van glutamaat blokkeert, kan worden ingezet voor de behandeling van compulsiviteit. Memantine is een geregistreerd geneesmiddel voor de behandeling van de ziekte van Alzheimer wat eventuele registratie van dit geneesmiddel voor de behandeling van compulsief gedrag vergemakkelijkt. Het heeft relatief weinig bijwerkingen. Memantine is ook naar voren gekomen in TACTICS als het te testen geneesmiddel voor de behandeling van patiënten. We zullen in een diermodel van compulsiviteit met hersen-MRI en gedrags-experimenten onderzoeken of en hoe memantine effectief is in de behandeling van compulsiviteit. De resultaten zullen worden vergeleken met fluoxetine. Uiteindelijk zullen de experimenten bijdragen tot het krijgen van meer inzicht in de mechanismen van compulsief gedrag wat zal bijdragen tot de verbeterde behandeling van compulsieve aandoeningen in de mens.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om de werking van memantine te onderzoeken in ratten met compulsiviteit. Er zal worden onderzocht welke hersengebieden rechtstreeks worden beïnvloed door memantine en of een langdurige behandeling met memantine de afwijkende verbindingen in de hersenen kan herstellen. Hiervoor zullen we onderzoeken: Welke gebieden in de hersenen veranderingen in activiteit vertonen t.g.v. een eenmalige behandeling met memantine. Zijn er verschillen waarneembaar tussen dieren met en zonder compulsief gedrag. In welke mate de verbindingen tussen hersenge-

bieden veranderen t.g.v. een eenmalige behandeling met memantine. Zijn er verschillen waarneembaar tussen dieren met en zonder compulsief gedrag. En in welke mate de verstoorde verbindingen tussen hersengebieden herstellen in dieren met compulsief gedrag t.g.v. een chronische behandeling met memantine.

Globale aanpak vraagstelling: We zullen, naast gedragsproeven, met behulp van MRI testen of en hoe memantine precies werkt in de hersenen. Met speciale MRI technieken is het namelijk mogelijk om naar veranderingen in hersen activiteit te kijken t.g.v. een injectie met een farmacon. Daarnaast is het met MRI ook mogelijk structurele en functionele verbindingen tussen hersengebieden te visualiseren. We zullen in dieren met compulsief gedrag met MRI bestuderen welke hersengebieden rechtstreeks worden beïnvloed door memantine en of een langdurige behandeling met memantine de afwijkende verbindingen in de hersenen kan herstellen. We gebruiken hiervoor de rat als diermodel, vanwege de mogelijkheid de hersenontwikkeling te volgen met geavanceerde MRI technieken in relatief korte tijd. De rat vertoont geen compulsief gedrag. Echter na herhaalde injecties met quinpirole, wat aangrijpt op het dopamine systeem, kan compulsiviteit worden geïnduceerd. We hebben ook aangetoond in dit model dat er, net als bij patiënten, veranderingen optreden in de bedrading van de hersenen.

Titel studie: Effect van kooiverrijking op extinctie

DEC nummer: 2014.I.12.105

Effecten van kooiverrijking op uitdoving van angst

Achtergrond: In voorafgaand onderzoek hebben we ontdekt dat kooiverrijking een sterke angstremmer is. Wanneer dieren een 'traumatische' ervaring hebben meegemaakt kunnen ze als gevolg hiervan angstiger reageren op milde stress prikkels. Dit kan door middel van kooiverrijking weer hersteld worden. Hoe dit gebeurt weten we echter niet. Ons onderzoek richt zich dan ook op de vraag: welke veranderingen in de hersenen zorgen voor de angst remmende werking van kooiverrijking. Wanneer we weten hoe dit gebeurt kunnen we die kennis gebruiken om nieuwe aangrijpingspunten te vinden voor therapie bij mensen. In dit onderzoek willen we antwoord op de vraag of kooiverrijking het leerproces "uitdoving" bevordert. Uitdoving is een specifiek leerproces dat soms gebruikt wordt in therapie voor angststoornissen. Het werkt door herhaalde blootstelling aan de angst prikkel waardoor de angst hierdoor afneemt.

Doel/hypothese: Het onderzoeken of kooiverrijking het uitdovingsproces (uitdoving van angst door herhaaldelijke blootstelling aan de angst prikkel) positief beïnvloedt. Globale aanpak vraagstelling: we leren dieren (ratten) eerst doormiddel van een milde aversieve stimulus om een bepaalde ruimte te vermijden. Vervolgens worden de dieren herhaaldelijk aan deze ruimte blootgesteld. Hierdoor treed uitdoving van de angst voor deze ruimte op. Dit meten we door te registreren of de dieren weer vrijwillig de ruimte willen betreden. We bestuderen of bij

dieren uit een verrijkte kooi uitdoving sneller verloopt. Het meten van gedrag en het onderzoeken hoe gedrag te beïnvloeden is kan niet zonder levende dieren. Het is daarom voor deze experimenten noodzakelijk om proefdieren te gebruiken. De rat is een dier dat goed kan leren en in deze experimenten zeer goed bruikbaar is.

Titel studie: Effects of a neuroprotective intervention on the motor and non-motor symptoms in Parkinson's disease: interaction with L-Dopa

DEC nummer: 2014.I.12.106

Het effect van neuroprotectief dieet interventie op motor en non-motor symptomen van de ziekte van Parkinson: interactie met L-DOPA

Achtergrond: De ziekte van Parkinson (PD) is na de ziekte van Alzheimer de meeste voorkomende ouderdomsziekte van het zenuwstelsel met een prevalentie van 1-3 % in ouderen boven 65 jaar. Het wordt gekenmerkt door het verlies van dopaminerge zenuwcellen in een bepaald brein gebied, de substantia nigra, waardoor stoornissen ontstaan in het bewegingsapparaat (traagheid, bewegingsarmoede, stijfheid en beven), de zgn. motorische symptomen. Ook non-motorische klachten zoals die aan het spijsverteringsstelsel en cognitieve symptomen waaronder achteruitgang in het geheugen doen zich voor. Er is geen geneesmiddel tegen PD, ondanks veel investeringen door de farmaceutische industrie. L-Dopa wordt toegepast als behandeling om dopamine in de hersenen aan te vullen, echter heeft L-Dopa sterke bijeffecten en geen effect op de non-motorische symptomen zoals de problemen in

het maagdarmkanaal.

Doel/hypothese: In een eerdere DEC aanvraag hebben we het rotenone muismodel opgezet en laten zien dat die zowel de motorische als de non-motorische symptomen van PD vertoont. Daarnaast hebben we aangetoond dat een neuroprotectief dieet de ontwikkeling van de ziekte remde en dat het dieet ook een therapeutisch effect had. Het doel van dit onderzoek is om in dit muismodel een dieetinterventie toe te passen en de effecten op de behandeling met L-Dopa te onderzoeken.

Globale aanpak vraagstelling: Het diermodel wordt geïnduceerd door infusie van rotenone in het brein via een operatie. Rotenone is een toxische stof (een pesticide) die aangrijpt in een proces dat ook bij PD verstoord is. Bovendien hebben epidemiologische studies een correlatie laten zien tussen blootstelling aan deze pesticide en het risico op het krijgen van PD. We hebben eerder aangetoond dat infusie van rotenone in het brein de symptomen van het bewegingsapparaat kan veroorzaken en ook dat er zgn. non-motorisch symptomen optreden (zoals die in de darmen). Rotenone zal unilateraal worden toegediend zoals we ook gedaan hebben in onze vorige experimenten (bilaterale lesies worden niet gemeld aangezien de overlevingskans klein is). Tevens hebben wij laten zien in ons vorig experiment dat de dieetinterventie (Uridine-monofosphate /visolie/vezels) een therapeutische werking heeft op de motorische en non-motorische symptomen van PD.

Titel studie: Prepareren en aanhouden
van gevasectomeerde mannen, fosters en
embryodonoren ten behoeve van het maken
van GG-muismodellen, revitalisatie en sanering

DEC nummer: 2014.I.12.107

***Prepareren en aanhouden van dieren t.b.v. het maken van
GG-muismodellen, revitalisatie en sanering***

Achtergrond: De generatie van genetisch gemodificeerde (GG) organismen (in dit geval muizen) is van groot belang voor onderzoek naar aandoeningen in mens en dier. In de gebruikte muismodellen, waarbij de genetische eigenschappen van de dieren zijn gewijzigd door genen weg te halen of toe te voegen, kan een situatie in vivo worden nagebootst die nagenoeg identiek is aan de te onderzoeken aandoening. Op deze manier wordt inzicht verkregen in de genetische component verantwoordelijk voor de bestudeerde aandoening. Daarnaast wordt de techniek gebruikt om uit mogelijk met ziekteverwekkers besmette muizen schone embryo's te halen en die te implanteren in niet-besmette pleegmoeders (sanering), verder worden er pleegmoeders gebruikt om ingevroren embryo's in te implanteren (revitalisatie).

Doel/hypothese: We willen gevasectomeerde mannen en fosters maken en in voorraad hebben om op verzoek van onderzoekers saneringen en revitalisaties te kunnen doen.

Globale aanpak vraagstelling: In het hier beschreven project worden muizen gesaneerd, worden er ingevroren embryo's geïmplanterd en worden er genetische muismodellen gegenereerd. de hiertoe gebruikte technieken behoren tot het standaard instrumentarium van het GDL te Utrecht.

Lekensamenvattingen 2014

Kamer II

Hart/longen,
Immunologie & Infectie,
Vaten

Vergadering 15 januari 2014

Titel studie: Enhancement of immunogenicity of h56 construct

DEC nummer: 2014.II.01.001

Verhoging van immuun respons tegen het h56 vaccin construct

Achtergrond: Tegen verschillende ziekten zoals Tuberculose bestaan geen goede vaccins. De oorzaak hiervoor is dat de algemeen gebruikte vaccinatiestrategieën in geval van deze infectieziekten slecht werken omdat de bacterie zich in cellen verstoort. Het is van belang dat er nieuwe vaccinatiestrategieën komen, die m.n. de afweer tegen in cellen overlevende ziekteverwekkers moeten opwekken. Dit is mogelijk door zogenaamde CD8 T cellen, een bepaald type afweercel, te activeren. In context van het EU consortium waarin we deze studie verrichten, is besloten om vaccins, gebaseerd op drie mycobacteriële eiwitten, te ontwikkelen. In een vorige studie hebben we respons tegen deze eiwitten gevonden, maar deze waren nog erg laag. Om gebruikt te worden voor vaccinatie moeten de responsen omhoog. We willen dit bewerkstelligen door immuun activators samen met de eiwitten in te brengen.

Doel/hypothese: Het doel is om een strategie te ontwikkelen die gebruikt kan worden om goede, CD8 T cel activerende vaccins te ontwikkelen. We weten dat de CD8 T cellen de eiwitten herkennen maar de respons moet nog verhoogd worden. Dit willen we bereiken met immuun activators die we samen met de eiwitten inbrengen.

Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van voorspelingsprogramma's hebben we bepaald welke onderdelen van de drie mycobacteriële eiwitten in een muizenmodel CD8 T cellen kunnen worden geactiveerd. Dit hebben we inmiddels kunnen bevestigen door middel van DNA tattoo immunisatie in vivo, maar de responsen waren te laag om daarmee verder te gaan in vaccin studies. We willen daarom eerst door middel van immuun activators de immuun responsen tegen de eiwitten verhogen. Voorbeelden hiervan zijn stabiliserende eiwitten zodat het vaccin langer stabiel is en sequenties die zorgen voor snelle opname door immuuncellen. Het construct met de drie mycobacteriële eiwitten inclusief stabiliserende eiwitten zal worden vergeleken met een construct waar alleen de stabiliserende eiwitten inzitten. Aangezien we ex vivo de specifieke responsen tegen de mycobacteriële eiwitten meten zijn dit de controle dieren. De proef bestaat uit drie DNA tattoo immunisaties in de eerste week, waarna er aan het eind van de tweede week wordt gekeken wat voor immuun respons de muizen hebben tegen de mycobacteriële eiwitten waarvoor het DNA codeerde. Voor deze studies hebben we proefdieren nodig omdat het bij vaccin onderzoek erg belangrijk is te bestuderen hoe alle facetten van het immuunsysteem reageren en wat de eventuele schadelijke gevolgen zijn.

Titel studie: Echo guided cardiac injection as delivery method of stem cells in the chronic phase of heart failure

DEC nummer: 2014.II.01.002

Stamcel injectie in chronisch hartfalen

Achtergrond: Door nieuwe technieken en therapieën overleven veel mensen een hartinfarct, maar helaas heeft het hart toch schade opgelopen. Het nog gezonde deel van het hart moet hierdoor harder werken om dezelfde hoeveelheid bloed rond te pompen. In eerste instantie kan het gezonde hartweefsel het verlies aan hartcellen compenseren, maar uiteindelijk raakt het hart uitgeput. Dit wordt hartfalen genoemd. De schade die het hart heeft opgelopen als gevolg van het hartinfarct moet daarom worden teruggedraaid. Aangezien hartcellen zelf niet delen om het verlies aan hartweefsel op te vangen, proberen onderzoekers het hart te repareren door middel van stamcel therapie, waarbij de stamcellen nieuw en gezond hartspierweefsel moeten vormen. Uit onderzoek is gebleken dat transplantatie van stamcellen een positief effect hebben op het hart. Stamceltherapie voor hartfalen is tot nu toe nog onderbelicht en er is nog veel ruimte voor verbetering.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om een hartfalen model te creëren, waarbij we zoeken naar het best haalbare tijds punt van stamcel injectie. We verwachten dat de stamcellen op een veilige manier geïnjecteerd kunnen worden en dat we een model in handen krijgen waarmee we kunnen bijdragen aan verbetering van stamceltherapie voor chronisch hartfalen.

Globale aanpak vraagstelling: Stamcellen worden met behulp van echo en een injectienaald geïnjecteerd in het hartweefsel in een muis waarbij de borstkas gesloten is. In eerste instantie zal dit getest worden op een gezond hart, zodat er gekeken kan worden of de stamcellen veilig te injecteren zijn. In het vervolg van de studie wordt er bij de muizen een hartinfarct gecreëerd waardoor de functie van het hart verminderd wordt en er in verloop van tijd een situatie optreedt van chronisch hartfalen. In dit model wordt er gezocht naar het best mogelijke tijds punt van stamcelinjectie, om in de toekomst stamceltherapie voor chronisch hartfalen te kunnen verbeteren. Het gebruik van proefdieren is nodig voor dit onderzoek, omdat hartfalen een complex proces is welke niet na te bootsen is in in vitro kweekmodellen.

Titel studie: Immunogenicity of spliced epitopes of P60

DEC nummer: 2014.II.01.003

Een nieuw doelwit voor afweerreacties tegen ziekteverwekkers

Achtergrond: Ziekteverwekkers verstoppen zich na binnendringen van het lichaam vaak in cellen. Alleen de zogenaamde CD8 T cellen van het afweersysteem kunnen zulke ziekteverwekker-bevattende cellen elimineren. CD8 T cellen kunnen zien of een cel een ziekteverwekker bevat, omdat de ziekteverwekker door z'n gastheer-cel in kleine stukjes gehakt wordt. Deze kleine stukjes worden vervolgens op het celoppervlak gepresenteerd. Met name het proteasoom, een cellulair enzym, is verantwoordelijk voor de afbraak van intracellulaire

ziekteverwekkers. Tot nog toe werd gedacht dat alleen de kleine fragmenten, die overblijven na afbraak van een ziekteverwekker, aan CD8 T cellen gepresenteerd zouden worden. Onlangs echter is gebleken dat het proteasoom niet alleen knipt maar ook plakt. Dus, naast afbraakproducten kunnen waarschijnlijk ook aan elkaar geplakte fragmenten aan CD8 T cellen gepresenteerd worden.

Doel/hypothese: Doel van dit onderzoek is om na te gaan of herkenning van aan elkaar geplakte fragmenten van een ziekteverwekker belangrijk is voor afweer tegen infecties.

Globale aanpak vraagstelling: Met deze studie willen we kijken of aan elkaar geplakte fragmenten van bekende eiwitten van *listeria monocytogenes* verantwoordelijk zijn voor de grote immuun respons die we in een bepaalde muizenstam zien. Vooralsnog is niet bekend tegen welk deel van het eiwit de muizen reageren. Dit kan komen omdat alleen naar continue fragmenten werd gekeken. Met deze studie willen we ook de geplakte delen meenemen in de overweging. De opzet van de studie is om cellen te maken die een eiwit presenteren waarvan we denken dat het epitoom erin zit. We gaan muizen met *listeria* infecteren zodat ze specifieke Tcellen krijgen en gaan vervolgens deze Tcellen testen op onze gemaakte cellen. Als de Tcellen onze cellen herkennen weten we dat het epitoom in het eiwit zit. Vervolgens gaan we dit eiwit opsplitsen in delen en kijken waar het epitoom precies zit. Omdat een immuunrespons een systemisch effect is en er een infectie met *listeria monocytogenes* moet plaats vinden hebben

we proefdieren nodig. In dit geval hebben we voor het muismodel gekozen waarin het stukje waartegen het immuunsysteem reageert, niet bekend is.

Titel studie: Isolation of embryonic stem cells from ADAR conditional knockout mice

DEC nummer: 2014.II.01.004

Embryonale stamcel-lijn van ADAR1 conditionele knockout muizen

Achtergrond: Recentelijk is ontdekt dat het enzym ADAR1 (adenosine deaminase acting on RNA) een belangrijke rol speelt in de regulatie van genen, met name door mRNA en ook microRNA te modificeren. De rol van dit enzym in de neurologie en oncologie is goed onderzocht, maar nu zijn er aanwijzingen dat de cardiale expressie van ADAR1 erg belangrijk is. Tijdens de embryonale ontwikkeling is de afwezigheid van ADAR1 (bij ADAR1 knockout muizen) dodelijk op dag 14.5 (E14.5). In het hart piekt de expressie van ADAR1 iets daarvoor, op dag 10 (E10), om vervolgens af te nemen. In de afwezigheid van ADAR1 is er overmatig veel apoptose in het hart, waardoor de normale ontwikkeling van het hart wordt tegengewerkt.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om embryonale stamcellen te isoleren van ADAR1 conditionele knockout muizen. Met deze stamcellen willen we de rol van ADAR1 in cardiale ontwikkeling onderzoeken. Globale aanpak vraagstelling: Door conditionele knockout muizen te gebruiken, kunnen we het ADAR1-gen in deze cellen in vitro verwijderen (door het toevoegen van Cre-recombinase). Dit is mogelijk op verschillende

tijdschpunten binnen de cardiale differentiatie. Op deze manier kunnen we een overkoepelend beeld krijgen van de rol van ADAR1 tijdens de gehele differentiatie periode, van stamcel tot volledig gedifferentieerde hartspiercel. Deze kennis kunnen we vervolgens toepassen in onze cardiac tissue engineering applicaties, waarbij we proberen om nieuw en gezond hartspierweefsel te maken van stamcellen. Wij vermoeden dat ADAR1 een belangrijke rol speelt in het differentiatie proces en verdere informatie zal ons kunnen helpen differentiaties te optimaliseren. Om deze ADAR1 conditionele knockout embryonale stamcellijn te maken, is het nodig muizen-embryo's te gebruiken. Vervolgens kunnen wij veel meer studies in vitro doen met deze embryonale stamcellijn, zonder daarvoor muizen nodig te hebben.

Titel studie: Comparison of different commercial nebulizers and different vehicles for nebulization in racing pigeons

DEC nummer: 2014.II.01.005

Vergelijking van verschillende commerciële vernevelaars en verschillende vervoersmiddelen voor het vernevelen van duiven

Achtergrond: Schimmelinfecties komen geregeld voor in het ademhalingsstelsel van vogels. Vernevelen kan een methode zijn om lokaal bij de schimmels te komen. Ondanks dat dit in de praktijk wordt toegepast, is er erg weinig over bekend. Er worden verschillende commerciële vernevelaars voor mensen aangeboden en er bestaan verschillende "vehicles" (water- en vetoplossingen), om de medicatie in te vernevelen. Voor de waterige oplos-

singen zijn er een aantal studies over de distributie, maar er zijn nog niet veel studies naar vette oplossingen en hoe de distributie daarvan is in het respiratieapparaat van vogels. Terwijl met name vette oplossingen belangrijk zijn bij antischimmel medicatie.

Doel/hypothese: In deze observatiestudie worden verschillende vehicles vergeleken, hierbij wordt gekeken naar de distributie en de mate van distributie op verschillende tijdstippen.

Globale aanpak vraagstelling: Er zullen twee vehicles, namelijk natriumchloride en propyleenglycol, vergeleken worden op het gebied van distributie en mate van distributie. Dit wordt bekeken op vier verschillende tijdstippen (t=30 min, 1, 2 en 4 uur). De dieren zullen na het vernevelen geëuthanaseerd worden om de kleuring van fluoresceïne te kunnen bekijken in verschillende onderdelen van het ademhalingsstelsel. Voor dit onderzoek zijn dieren nodig omdat dit de enige manier is waarop te zien is hoe de vehicles door kunnen dringen tot de weefsels en het daar, waar het terecht dient te komen.

Vergadering 19 februari

Titel studie: Nipekine a immunomodulator: a new approach to prevent/reduce colibacillosis in broiler chickens

DEC nummer: 2014.II.02.006

Onderhuids toedienen van de een stof (nipekine) die extra hulp biedt bij de reactie tegen een infectie aan vleeskuikens 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 behandeld met antibiotica. Om antibiotica resistentie tegen te gaan wordt gezocht naar alternatieven. In deze proefopstelling wordt een immunomodulerende stof aan vleeskuikens toegediend met als doel het immuunsysteem van het vleeskuiken te ondersteunen zodat de kuikens in staat zijn de E. coli bacterie te overwinnen.

Doel/hypothese: Deze hulpstof (nipekine) voorkomt/vermindert etterige ontstekingen bij vleeskuikens door de E.coli bacterie.

Globale aanpak vraagstelling: 1-dagskuikens worden op de eerste levensdag in 6 gelijke groepen verdeeld. Op de tweede levensdag worden 4 groepen onder de huid ingespoten met 4 verschillende soorten nipekines. Groep 5 krijgt een placebo inspuiting en groep 6 krijgt niets toegediend. Op de 11^{de} levensdag krijgen de kuikens van de groepen 1 tot en met 5 in de luchtpijp een E.

coli bacterie met een groot ziekteverwekkend vermogen toegediend. Groep 6 (controle groep) krijgt niets. Op de 18de levensdag worden de kuikens gedood en de schade die in het kuiken door deze bacterie is veroorzaakt, wordt in de verschillende groepen vastgesteld. Nieuwe immunomodulerende stoffen dienen uiteindelijk altijd in levende dieren te worden getest omdat in het dier complexe immuunreacties aan de orde zijn die niet door een celweeksysteem kunnen worden nagebootst.

Titel studie: The effect of the NLRP3-inflammasome inhibition on infarct size and cardiac function in a porcine model of myocardial infarction

DEC nummer: 2014.II.02.007

Nieuwe medicijnen voor patiënten die lijden aan een acuut hartinfarct

Achtergrond: Een hartinfarct leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel hartspierweefsel. Deze schade probeert men te beperken door patiënten zo snel mogelijk aan een dotter behandeling te helpen, waarbij de doorbloeding van het hart wordt hersteld. Desondanks leidt een hartinfarct in veel patiënten tot een verminderde kwaliteit van leven door een verminderde hartfunctie. Dit komt onder andere doordat er bij het herstellen van de doorbloeding van het hart een acute ontstekingsreactie ontstaat die schadelijk is voor het hart en zorgt voor een verminderde functie van het hart. Daarom is het noodzakelijk dat er nieuwe medicijnen worden gevonden die deze acute ontstekingsreactie tegengaan om op deze manier zoveel mogelijk

hartsperweefsel in leven te houden na een hartinfarct. Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het testen van twee nieuwe middelen in varkens om te kijken hoe effectief deze zijn in het voorkomen van hartschade na een acuut hartinfarct. We verwachten in deze studie dat deze nieuwe middelen zorgen voor een beperking van de ontstekingsreactie. Hierdoor zou er minder schade aan het hart ontstaan. Deze daling in hartschade moet uiteindelijk leiden tot een betere functie van het hart. Uiteindelijk weten we dat een verbeterde hartfunctie leidt tot een betere kwaliteit van leven, een langere overlevingsduur en een reductie van zorgkosten. Voordat dit medicijn in patiënten toegepast moet worden is het vereist dat het in dieren wordt getest.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie zullen we varkens op verschillende manieren behandelen nadat zij een hartinfarct ondergaan. Er zullen 2 verschillende medicijnen getest worden in 2 groepen varkens, een derde groep varkens zal een placebo (nep-medicijn) krijgen. De middelen worden getest op varkens omdat zij het best vergelijkbaar zijn met mensen m.b.t. de gevolgen van een hartinfarct. In deze studie wordt gekeken naar de hartfunctie een week na een hartinfarct en ook wordt dan de infarct grootte bepaald. Door de hartfunctie en de grootte van het hartinfarct te vergelijken tussen de verschillende groepen kunnen we bekijken of de verschillende medicamenten goed werken en effectief genoeg zijn om in patiënten te testen. Wanneer de resultaten positief zijn, dan vormt dit een belangrijke stap richting een nieuwe behandeling en zou er bekeken kunnen worden of ook bij een mens een behandeling met een van deze middelen effectief zou kunnen zijn.

Titel studie: Het effect van vaccinatie op bystander activatie

DEC nummer: 2014.II.02.008

Effect van vaccins op niet-vaccin gerelateerde immuuncellen

Achtergrond: In zeldzame maar ernstige gevallen kunnen vaccins 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. Cellen van het immuunsysteem reageren op het toegediende vaccin wat nodig is voor een goede bescherming tegen de infectie waar het vaccin voor gebruikt wordt. Echter, mogelijk leidt het vaccin soms ook tot ongewenste activatie van cellen van het immuunsysteem die reageren op lichaamseigen stoffen (en die dus niet specifiek reageren op het vaccin). Activatie van deze ongerelateerde cellen ('toeschouwers') wordt 'bystander activatie' genoemd en kan leiden tot auto-immuniteit. Daarom wordt met dit onderzoek bestudeerd of vaccins inderdaad kunnen leiden tot bystander activatie. In de toekomst kunnen nieuwe vaccins daarop getest worden, om veilig gebruik te garanderen. Doel/hypothese: Het maken van een tool om te onderzoeken of nieuwe, humane vaccins in ontwikkeling kunnen leiden tot de eerder genoemde bystander activatie en zo te voorkomen dat deze vaccins in de mens terecht komen.

Globale aanpak vraagstelling: Om zo goed mogelijk de menselijke situatie na te bootsen waarbij alle cellen van het immuunsysteem samenwerken, zullen muizen eenmalig met traceerbare, vaccin-ongerelateerde

zelf-reactieve immuuncellen worden ingespoten, waarna ze worden ingeënt (1 of 2 maal) met door mensen gebruikte vaccins of vaccin-bestanddelen. Daarna wordt de mate van activatie van deze traceerbare, vaccin-ongelateerde immuuncellen bepaald.

Titel studie: Oesophagusrespons op electroporatie ablatie

DEC nummer: 2014.II.02.009

Het effect op de slokdarm van een nieuwe methode om bewust weefselbeschadiging aan het hart te veroorzaken

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 lange termijn werkzaamheid (door onvoldoende diepte en/of -grootte van het beschadigde weefsel), of een verhoogd complicatierisico. In de afgelopen 5 jaar heeft onze onderzoeksgroep een nieuwe ablatiemethode ontwikkeld, waarbij wel goede en diepe weefselbeschadiging gemaakt konden worden, maar 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). Belangrijk hierbij is dat we alleen het hartspierweefsel beschadigen en niet de omliggende weefsels, zoals zenuwen, bloedvaten en de slokdarm.

Doel/hypothese: Nadat we in eerdere studies het effect

van deze nieuwe ablatietechniek op de zenuwen en bloedvaten onderzocht hebben, dienen we nog het effect op de slokdarm te onderzoeken.

Globale aanpak vraagstelling: Bij het varken willen we met behulp van de nieuwe ablatietechniek bewust weefselbeschadiging aan de slokdarm maken. Dit doen we door het ablatieapparaat direct op de slokdarm te plaatsen. In de dagen erna wordt 2 keer een kijk-onderzoek (slokdarmspiegeling) gedaan om te kijken of er beschadigingen aan de slokdarm zijn opgetreden. Na 2 maanden willen we de effecten van de nieuwe ablatietechniek op de slokdarm microscopisch onderzoeken. Voor dit onderzoek zijn dierproeven noodzakelijk, omdat het 1. een nooit eerder op mensen toegepaste techniek is, en 2. de slokdarm na 2 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: De rol van Amphireguline, GRK2 en de relaxine receptor in de Immunovasculaire veranderingen in de placenta tijdens de vroege zwangerschap

DEC nummer: 2014.II.02.010

Rol van amphireguline, GRK2 en de relaxine receptor in de placenta ontwikkeling tijdens de vroege zwangerschap

Achtergrond: Zwangerschapsvergiftiging en groeivertraging van het ongeboren kind zijn een van de meest voorkomende complicaties die tijdens zwangerschap kunnen optreden. Verminderde ontwikkeling van nieuwe bloedvaten en aanpassingen in al aanwezige bloedvaten in de baarmoeder spelen een belangrijk onderdeel in de ontwikkeling van deze zwangerschapscomplicaties. Op het moment bestaat er nog geen goede behandeling omdat de mechanismen die voor de juiste ontwikkeling van de placenta, en de daarbij horende vascularisatie van de placenta, nog niet bekend zijn. Ons eerdere onderzoek heeft een drietal eiwitten (GRK2, relaxine receptor, amphireguline) geïdentificeerd die mogelijk een belangrijke rol spelen in de correcte ontwikkeling van de bloedvaten in de placenta.

Doel/hypothese: De rol van de drie eiwitten (GRK2, relaxine receptor, amphireguline) bestuderen in de ontwikkeling van het bloedvatstelsel in de placenta en baarmoeder tijdens vroege zwangerschap.

Globale aanpak vraagstelling: Wij zullen gebruik maken van muizen die deficiënt zijn voor één van de drie eiwitten. Op verschillende tijdstippen tijdens de zwanger-

schap zullen wij bestuderen hoe het bloedvatstelsel zich heeft ontwikkeld in de placenta en baarmoeder van deze knock-out muizen.

Titel studie: Influence miRNA differences on CD4 Tcell functionality

DEC nummer: 2014.II.02.011

Verschillen in activatie profielen na infectie in verschillende muizen waarbij bepaalde genen inactief zijn

Achtergrond: Het is bekend dat immuuncellen dramatische veranderingen ondergaan in hun eiwit huishouding, wat gestuurd wordt door bepaalde DNA producten. Dit is een normaal verschijnsel waarin de DNA producten de eiwitsynthese controleren. Als dit proces fout gaat kunnen niet functionele immuuncellen ontstaan waardoor een infectie moeilijker onder controle kan worden gehouden. We hypothetiseren dat een oorzaak voor de niet functionele immuuncellen genen zijn die inactief gemaakt zijn in muizen, omdat we in verschillende van deze muizen problemen in de immuun respons hebben gezien tegen een infectie.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bestuderen van activatie profielen in geactiveerde immuuncellen na een infectie in muizen waarbij bepaalde genen inactief gemaakt zijn. Deze activatie profielen zullen met elkaar, de normale situatie waarin de immuuncellen allemaal goed werken, en met de situatie waarbij er geen infectie aanwezig is vergeleken worden.

Globale aanpak vraagstelling: Aangezien de immuunrespons moet worden bestudeerd naar aanleiding van een infectie is een diermodel nodig. De verschillende groe-

pen muizen waarbij genen inactief zijn en de normale dieren krijgen een infectie met *listeria monocytogenes* op dag 0. Met het controle dier per groep gebeurt niks. Op dag 3 en 4 worden alle muizen gecheckt op ziekteverloop. Op dag 5 isoleren we de immuuncellen en gaan op zoek naar verschillen in DNA producten tussen de verschillende muizen.

Titel studie: Inductie van Eosinofiele oesophagitis in de muis middels epicutane sensitisatie op het oor

DEC nummer: 2014.II.02.012

Inductie van Eosinofiele oesophagitis in de muis middels epicutane sensitisatie op het oor

Achtergrond: Eosinofiele oesofagitis (EoE) is een chronische aandoening van de slokdarm, die wordt gekarakteriseerd door infiltratie van eosinofielen (type witte bloedcel die een rol spelen bij allergische reacties en afweer) en veranderingen in de architectuur van het weefsel. In de afgelopen 10 jaar is de incidentie van EoE zeer toegenomen, met name door een verbeterde herkenning van de ziekte. Patiënten met EoE vertonen misselijkheid, slikstoornissen, buik- en borstpijn. Oudere kinderen en volwassenen lijden ook vaak aan ernstige maagbranden. De inflammatie in EoE lijkt te worden veroorzaakt door een immunologische reactie op allergenen in het voedsel en in de lucht. Het precieze mechanisme is echter nog niet duidelijk, waardoor meer onderzoek naar de achtergrond van de ontwikkeling en verloop van EoE van vitaal belang is voor de ontwikkeling van nieuwe therapie. Doel/hypothese: Het opzetten van een nieuw muismo-

del voor de inductie van EoE. Vervolgens zal in ditzelfde model geprobeerd worden om de symptomen van EoE te onderdrukken met behulp van (dieet)interventies. Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden, gedurende 14 dagen, overgevoelig gemaakt voor kippeneiwit (OVA) door middel van dagelijkse blootstelling van het oor aan een OVA oplossing. Vervolgens krijgen de muizen drinkwater waaraan OVA is toegevoegd en krijgen de muizen om de 2 tot 3 dagen een vast volume OVA oplossing dat direct in de slokdarm wordt toegediend. Er ontstaat dan een infiltratie van eosinofielen in de slokdarm. In het vervollexperiment krijgen de dieren een dieet die mogelijk in staat is om de symptomen van EoE te onderdrukken.

Titel studie: Een verbeterde darmflora d.m.v. specifieke diëten leidt tot verlaging van symptomen van voedsel allergie en astma, door een gezonde gut-brain axis

DEC nummer: 2014.II.02.013

Een verbeterde darmflora d.m.v. specifieke diëten leidt tot verlaging van symptomen van voedsel allergie en astma

Achtergrond: Het is bekend dat stress aanzienlijk de regulatie van het immuunsysteem kan beïnvloeden. In de meeste proeven dusver, zorgen stressvolle triggers zoals angst, maternale deprivatie en sociale bedreiging voor een verhoogde gevoeligheid voor allergieën en infectieziekte. Stress die ervaren wordt in de hersenen (Centrale zenuwstelsel) heeft effect op de darmen (Enterisch zenuwstelsel), wat een verklaring kan zijn voor de gevonden effecten van stress op bepaalde allergie. Het is gegeven dat deze communicatie bi-directioneel is. In een

gezondere darmflora (micro-organismen in de darmwand) zouden de negatieve effecten van stress minder kunnen zijn.

Doel/hypothese: Na het versterken van de darmflora van muizen, met behulp van prebiotische diëten verwachten wij de verergeringen die stress veroorzaken op koemelk allergie, astma en autistisch gedrag te doen stoppen en zelfs de ontstekingen en afwijkend gedrag te verminderen of te voorkomen.

Globale aanpak vraagstelling: We zullen muizen prebiotische diëten geven die tot een gezondere en sterkere darmflora leiden. Hierna zal er koemelk allergie en astma worden geïnduceerd in de muizen en gekeken worden of de symptomen van deze infectieziekten is verminderd. Er zal ook worden gekeken naar hoe stress de ontwikkeling van allergieën kan versterken en hoe dit kan worden tegengegaan met een versterkte darmflora. De communicatie tussen brein en darmen is een veel belovend, maar complex systeem. Het is nodig om muizen voor dit onderzoek te gebruiken om de complexe communicatie tussen de darmen en het brein te begrijpen. De resultaten van dit project kunnen leiden tot nieuwe therapieën en het voorkomen van allergische aandoeningen.

Vergadering 19 maart

Titel studie: Influence of autophagy for regulatory T cell function

DEC nummer: 2014.II.03.014

Bestuderen van het afweersysteem voor betere therapieën in de toekomst

Achtergrond: Regulaire T cellen zijn erg belangrijk voor het behoud van een goed gebalanceerd afweersysteem.

We snappen alleen nog niet precies hoe deze cellen werken. Als we beter begrijpen hoe deze cellen functioneren kunnen we hiermee nieuwe manieren ontwerpen waarmee we het afweersysteem kunnen beïnvloeden.

Doel/hypothese: Wij zullen hier op een cellulair niveau kijken hoe regulatoire T cellen werken en hoe hun functie constant door de omgeving wordt gecontroleerd. Deze kennis zullen we vervolgens toepassen om nieuwe medicijnen te gaan ontwerpen om ziektes als reuma en kanker te behandelen.

Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studies hebben we een manier nodig om een grote zuivere populatie regulatoire T cellen te verkrijgen. De enige manier om dit te doen is gebruik te maken van een muis die op een specifieke manier gemodificeerd is zodat alleen de regulatoire T cellen van deze muis een marker hebben. De verkregen cellen kunnen we vervolgens manipuleren en onderzoeken of de functie door deze manipulatie veranderd is. Er is geen andere manier dan het gebruik van deze specifieke muis, om een zuivere populatie regulatoire T cellen te verkrijgen voor onderzoek.

Titel studie: Increased HIF-1-alpha during renal hypoxia in rat models: effects on (terminal) afferent renal nerve activity and renal tissue oxygen

DEC nummer: 2014.II.03.015

Stabilisatie van adaptatie moleculen (HIFs) tijdens verminderde zuurstof in rat modellen: effect op de zenuwactiviteit van de nier naar het centrale zenuwstelsel

Achtergrond: Ongeveer 30-40% van de Westerse bevolking lijdt aan een te hoge bloeddruk, hypertensie. Behandeling hiervan is essentieel om de ontwikkeling van andere ziekten aan hart en bloedvaten te voorkomen. Toch zijn de huidige behandelingen voor hypertensie niet adequaat genoeg. Daarom moeten nieuwe mechanismen in dit ziektebeeld onderzocht worden voor nieuwe medicatie. Het sympathische zenuwstelsel, wat ervoor zorgt dat je lichaam gemobiliseerd wordt ten tijde van acute bedreiging, activiteit of stress is ook betrokken bij het verhogen van de bloeddruk. Chronische activatie van het sympathische zenuwstelsel speelt dus de hoofdrol in hypertensie en is ook een kenmerk van nierziekten. Verminderde zuurstof in het nierweefsel is gerelateerd aan sympathische zenuw hyperactiviteit. Een vermindering in zuurstof in de nier gaat gepaard met de aanmaak van bepaalde moleculen die relevant zijn in biologische processen om de zuurstof in het weefsel te verbeteren. Deze moleculen noemen we HIFs. Het is aangetoond dat stabilisatie van een specifieke HIF, HIF-1-alpha, voor een verminderde bloeddruk response zorgt in een acuut hypertensie model. In deze studie worden deze HIFs onderzocht. Op deze manier

proberen we een nieuwe manier voor de behandeling van hypertensie te vinden.

Doel/hypothese: Doel: Het onderzoeken van verminderde zuurstof in de nier en de associatie van de HIFs (lage zuurstof adaptatie moleculen), als een determinant van sympathische zenuwactiviteit. Hypothese: HIF stabilisatie tijdens verminderde zuurstof in de nier vermindert zenuwactiviteit vanaf de nier.

Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van HIF op de sympathische activiteit te onderzoeken zal een specifieke HIF stabilisator aan ratten toegediend moeten worden. De ratten krijgen ook een zuurstof-telemeter geïmplantéerd waardoor continue de zuurstofspanning in de nier te meten is. De zenuwactiviteit vanaf de nier zal gemeten worden in een terminale proef en vergeleken worden met dieren die geen HIF stabilisatie hebben ontvangen. Ook de bloeddruk zal gemeten worden. De complexiteit van deze setting is nog niet in vitro of via computer modellen te simuleren. Daarom zijn deze dieren nodig in het onderzoek om een nieuwe target voor hypertensie te vinden.

Titel studie: Assessment of efficacy of different Salmonella vaccination schemes for protection of laying hens against a late challenge

DEC nummer: 2014.II.03.016

Testen van de effectiviteit van verschillende vaccins in het beschermen van oudere leghennen tegen een infectie met Salmonella bacteriën

Achtergrond: Er is een toenemende trend om de legperiode van leghennen, voor de productie van consumptie-

eieren, te verlengen vanuit het oogpunt van duurzame inzet van dieren. Aangezien leghennen alleen kunnen worden gevaccineerd voordat ze eieren gaan leggen kan het zo zijn dat de weerstand tegen infecties, bij oudere leghennen, dusdanig afneemt dat de kans op Salmonella infecties toeneemt. Leghennen die besmet zijn met Salmonella kunnen de bacteriën overdragen aan de eieren. Consumptie van besmette eieren/eiproducten kan bij mensen voedselinfecties veroorzaken (salmonellose), wat kan leiden tot diarree, buikpijn, koorts en soms tot ziekenhuisopnames. Het is dus van groot belang voor de volksgezondheid om Salmonella infecties in leghennen zo goed mogelijk te bestrijden. In deze studie wordt onderzocht welke (combinatie) van vaccins nog bescherming geeft tegen infectie met de belangrijkste 2 typen Salmonella in leghennen die ouder dan 80 weken zijn. Doel/hypothese: Vaststellen welke (combinatie van) vaccins nog voldoende effectief zijn om te beschermen tegen een infectie met Salmonella van leghennen bij een verlengde productieperiode. Globale aanpak vraagstelling: Leghennen die op verschillende manieren zijn gevaccineerd worden van het legbedrijf, in plaats van naar het slachthuis, naar de proefaccommodatie verplaatst. Deze dieren krijgen een kunstmatige infectie met Salmonella Enteritidis of Salmonella Typhimurium. Dit zal geen of nauwelijks ziekteverschijnselen veroorzaken. Na 1 en 2 weken na infectie worden de dieren gedood om te onderzoeken in welke mate de infectie is aangeslagen. Hiermee kan worden vastgesteld welke vaccinaties ook in oude hennen nog voldoende effectief zijn om mens en dier te beschermen tegen Salmonella infecties wanneer een langere produc-

tieperiode wordt aangehouden. Dergelijke infectieprocessen worden beïnvloed door veel complexe processen in het levende dier, zoals de weerstand tegen infecties etc. Dit kan niet goed worden nagebootst in modellen zonder levende dieren waardoor de inzet van levende leghennen, aan het einde van hun productieperiode, noodzakelijk is.

Titel studie: Localized delivery of miRNA blockers as a treatment for myocardial infarction

DEC nummer: 2014.II.03.017

Lokale afgifte van miRNA blockers als behandeling voor myocardinfarct

Achtergrond: Myocardinfarct (MI) is een van de belangrijkste oorzaken van morbiditeit en mortaliteit wereldwijd en nieuwe behandelmethoden voor het MI zijn nodig. Na het MI probeert het hart zichzelf te genezen en regenereren onder andere door het verhogen van angiogenese. Toch verslechtert het hart na verloop van tijd. Verschillende strategieën zijn geprobeerd om de hartfunctie te behouden zoals het verhogen van angiogenese, het verhogen van cardiomyocyt overleving, het remmen van de ontstekingsrespons en vermindering van de fibrotische respons. Al deze strategieën bleken echter niet goed genoeg te werken. Onlangs zijn microRNAs gevonden die betrokken zijn bij de processen die leiden tot verbeterde hartregeneratie en -preservatie. Één microRNA kan 100 genen beïnvloeden en kan verschillende processen tegelijkertijd reguleren. Verschillende studies hebben de krachtige functie van microRNA op angiogenese, fibrose,

ontsteking en apoptose aangetoond en verschaften veelbelovende resultaten om tot een behandeling voor aandoeningen aan het hart te komen, gebaseerd op microRNA modulatie. Bijvoorbeeld door miRNA-214 te remmen, een microRNA dat angiogenese remt. Door de miRNA-214 met een antagomiR te blokkeren wordt het remmende effect op angiogenese opgeheven. Echter, om de antagomiR op een therapeutisch relevante dosis in het hart te krijgen moeten hoeveelheden van 20-80 mg/kg lichaamsgewicht worden ingespoten. Dit zou per patiënt 500.000 euro kosten. Daarom zijn methoden nodig om deze antagomiRs lokaal in het lichaam af te kunnen geven zodat de lichamelijke dosis omlaag kan en de therapie betaalbaar wordt. In deze studie willen we zo'n methode om antagomiRs lokaal af te geven bestuderen. Het betreft hier een ultrageluid gevoelige microbel (MB). Kleine gasbelletjes die in het bloed ingespoten kunnen worden en lokaal door ultrageluid geactiveerd kunnen worden om antagomiR los te laten. We hebben al aangetoond dat dit lukt in skeletspieren en willen deze methode nu ook inzetten om antagomiR lokaal in het hart af te geven.

Doel/hypothese: We hebben aangetoond dat MB de antagomiR lokaal kan afleveren in skeletspieren. We verwachten vergelijkbare effecten in de hartspier met een eventueel andere weefseldistributie aangezien het hart qua structuur verschilt van de skeletspier. Het uiteindelijke doel is om deze techniek te gebruiken om MI te behandelen waarbij een lage dosis antagomiR voldoende is omdat de MB de lokale dosis in het hart zal verhogen. Hiermee verlagen we de kosten van behandeling waardoor deze klinisch betaalbaar wordt.

Globale aanpak vraagstelling: De studie bestaat uit twee delen. 1) Vertaling van de lokale afgifte van antagomiR met MB van de skeletspier naar de hartspier. In een eerdere studie hebben we gevonden dat MB antagomiR lokaal in skeletspieren kunnen afgeven. Voor het hart willen we deze resultaten vertalen om aan te tonen dat deze techniek ook voor het hart gebruikt kan worden. Daarnaast willen we de weefseldistributie van de antagomiR bestuderen aangezien het type cel waar de antagomiR terecht komt bepaalt wat voor processen in het hart met deze methode gestuurd kunnen worden.

2a) Verhoogde lokale afgifte en lokalisatie van antagomiR in een ischemie-reperfusie MI model. We willen MI behandelen met MB en antagomiR. Ischemie-reperfusie beïnvloedt de bloedstroom in het hart en aangezien MB in het bloed zitten, kan ook de lokalisatie van de afgeleverde antagomiR worden beïnvloed door ischemie-reperfusie. Daarom willen we het effect van ischemie-reperfusie op de lokalisatie van antagomiR bestuderen om zo cellen en processen te identificeren die behandelbaar zijn bij ischemie-reperfusie geïnduceerd MI. 2b) Lange termijn therapeutisch effect van antagomiR afgifte door MB in een ischemie-reperfusie MI model. Wanneer we hebben vastgesteld welke cellen en processen kunnen worden beïnvloed door MB en antagomiR behandeling willen we het lange termijn therapeutisch effect op hartfunctie van deze behandeling bestuderen in een ischemie-reperfusie model.

Voor deze proeven is een levend hart noodzakelijk aangezien zaken als contractie, stroomsnelheid van het bloed en

de dichtheid van capillairen invloed kunnen hebben op de lokalisatie en effect van de antagomiR, dit is in vitro niet na te bootsen.

Titel studie: Pig model for development of vasa vasorum

DEC nummer: 2014.II.03.018

Groot proefdiermodel voor het bestuderen van de ontwikkeling van de bloedvoorziening van de slagaders

Achtergrond: Slagaderverkalking is een groot probleem in zowel de Westerse als niet-Westerse wereld met vérstrekkende gevolgen. Een van de factoren in de groei van slagaderverkalking, is bloedtoevoer van kleine bloedvaatjes die van de buitenste naar binnenste wand van de slagader lopen. Een groot proefdiermodel dat vergelijkbaar is met de mens voor het testen van therapieën hierop, bestaat nog niet. Mocht je met nieuwe therapie deze bloed-, zuurstof- en voedingsstoffentoevoer naar de slagaderverkalking verminderen, dan vermindert de slagaderverkalking, waardoor er minder hartinfarcten kunnen optreden.

Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is tweeledig: 1) Ontwikkelen van een konijnenmodel voor de ontwikkeling van aderverkalking met voornamelijk groei van kleine vaatjes die van de buitenwand naar de aderverkalking toe lopen. 2) Testen van een nieuwe therapie, waarbij deze vaatjes met warmte-energie weggebrand kunnen worden en zo de vaatvoorziening verminderd en de aderverkalking minder wordt.

Globale aanpak vraagstelling: We zullen 6 konijnen de gehele studieperiode vetrijk voedsel geven. Twee weken

na de start hiervan zullen we met een ballon de binnenste cellen van de aorta weg eroderen, tegelijk plaatsen we een koker met ontstekingsactieve stoffen om de aorta. Vier weken hierna zullen met een slangetje via de bloedbaan bij 3 van de 6 konijnen warmte-energie op de plekken bij de aorta aanvoeren, waardoor we hopen dat deze vaatjes weg geschroeid worden en de bloedtoevoer naar de binnenste vaatwand en de slagaderverkalking minder worden. Een week nadien zullen we weefsel uitenemen en onder de microscoop bekijken en vergelijken met het dat van de konijnen die niet behandeld zijn met warmte-energie.

Titel studie: Effect of LAIR in myocardial ischaemia

DEC nummer: 2014.II.03.019

Effect van LAIR op de gevolgen van een hartinfarct

Achtergrond: Hartinfarcten en de gevolgen daarvan op de kwaliteit van leven en sterfte nemen een belangrijke plaats in de Westerse wereld. Bij een hartinfarct krijgt een deel van de hartspier gedurende een bepaalde tijd geen of te weinig bloed. Als gevolg daarvan ontstaan er zuurstoftekort, afbraakproducten van verbranding zonder zuurstof en zal een deel van de hartspiercellen afsterven. Dit leidt tot het vrijkomen van stoffen die ontstekingscellen aantrekken en activeren. Deze ontstekingsreactie is bedoeld om het dode weefsel op te ruimen. Echter, de ontsteking kan zo heftig zijn dat er naast de reeds geleden schade ook weefselschade ontstaat door een overtrokken ontstekingsreactie. Wanneer deze ontstekingsreactie geremd zou kunnen worden, leidt dit tot minder

weefschade en een betere hartfunctie na hartinfarct. LAIR is een receptor die voorkomt op een groot deel van de ontstekingscellen in het immuunsysteem. Als deze receptor op cellen wordt gestimuleerd, zullen ze minder snel overgaan tot een ontstekingsreactie en het doden van andere cellen. Als blijkt dat dit een rol speelt bij het hartinfarct, zou in de toekomst wellicht een antilichaam kunnen worden gegeven aan mensen om deze receptor te stimuleren en zo de ontstekingsreactie in te perken. Doel/hypothese: Doel: aantonen dat LAIR een rol speelt in de inflammatoire reactie na een hartinfarct en effect heeft op de hartfunctie. Hypothese: muizen die geen LAIR-receptor op hun ontstekingscellen hebben (knock-out), zullen ontstekingscellen hebben die minder geremd worden en zo na een hartinfarct meer schade aanrichten. Globale aanpak vraagstelling: Om aan te tonen of deze receptor wel of geen invloed heeft op de ontstekingsreactie na een hartinfarct, zullen we een experiment opzetten waarbij proefgroep 1 de receptor wel heeft (wildtype) en proefgroep 2 receptor niet (LAIR knock-out). Beide groepen zullen 7 dagen vóór operatie een echo van het hart ondergaan. Een week later volgt de operatie waarbij een van de kransslagaders afgebonden worden (hartinfarct). Een of drie weken later volgt een echo van het hart, waarna terminatie en weefseluitname voor bepaling van de infarctgrootte en de celinflux.

Titel studie: Multi-Colour Troy Tracing during Post-Natal kidney development and adult cell turnover

DEC nummer: 2014.II.03.020

De bijdrage van Troy aan postnatale nierontwikkeling en aan onderhoud van volwassen nier

Achtergrond: Nierfalen vormt een belangrijk maatschappelijk probleem. Niet alleen door de grote morbiditeit en mortaliteit voor de patiënten, maar ook door de hoge kosten voor de gezondheidszorg. Nierfalen kan worden gezien als het resultaat van de balans tussen nierschade en nierherstel. De nier heeft een groot zelfherstellend vermogen. Als de schade echter te groot is, wordt de nierziekte progressief. Huidige behandelingen zijn beperkt tot het remmen van de schade. Therapeutisch stimuleren van herstel is een veelbelovende nieuwe therapeutische optie. Stamcellen vormen een interessant therapeutisch aangrijpingspunt om nierherstel te stimuleren. In recent onderzoek hebben wij laten zien dat het eiwit Troy gebruikt kan worden om stamcellen te identificeren in verschillende organen. Onze eerste data wijzen erop dat dit ook in de nier zo is en het lijkt erop dat vanuit 1 Troy cel een heel stukje nefron (de functionele unit van de nier) groeit. In de huidige studie willen wij onderzoeken of dit daadwerkelijk zo is of dat er meerdere cellen bijdragen aan het vormen van een stukje nier. Als het daadwerkelijk zo is dat een heel stukje nier groeit uit één cel, dan hebben we bewijs dat Troy een stamcel is. Identificatie van stamcelpopulaties in de nier is een belangrijke stap in de ontwikkeling van therapieën om nierherstel te bevorderen.

Doel/hypothese: Hypothese: Troy-positieve cellen zijn stamcellen die aan nierontwikkeling en onderhoud van de volwassen nier bijdragen. Bij deze processen wordt een heel deel van het nefron (de verzamelbuis) gemaakt uit één Troy cel. Doel: Bewijzen dat een enkele Troy-positieve cel een deel van het nefron (de verzamelbuis) ontwikkelt, zowel tijdens postnatale nierontwikkeling als normale cel turnover in de volwassen nier.

Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek zal plaatsvinden in een diermodel omdat er op dit moment geen goede cel- of computermodellen zijn om het proces van nierontwikkeling en onderhoud na te bootsen. Wij kiezen voor een muizenmodel omdat wij over muizenstammen beschikken waarin Troy-cellen en hun dochtercellen eenvoudig te labelen zijn. At random wordt na toediening van tamoxifen in Troy-positieve cellen een van de volgende 4 eiwitten met een kleur tot expressie gebracht: RFP (rood), YFP (geel) EGFP (groen), of CYP (blauw). Omdat deze methode ingrijpt op DNA niveau, worden deze genen ook tot expressie gebracht bij dochtercellen, zodat de dochtercellen dezelfde kleur krijgen. Een gekleurd nefronsegment geeft dus aan dat dit afkomstig is van een of meerdere Troy cellen. Indien één nefronsegment uit meerdere kleuren bestaat, dan betekent het dat meerdere Troy+ cellen betrokken zijn bij de vorming van dat specifieke nefronsegment. Als een heel nefronsegment uit 1 kleur bestaat, dan heeft een enkele Troy+ cel dit segment gevormd en kun je dus stellen dat dit een ware stamcel is. We willen twee experimenten doen: 1) Op dag 1 na de geboorte van de muizen injecteren we tamoxifen, zodat ze een van de vier eiwitten met kleur tot expressie brengen. Dit zullen ze altijd blijven doen, net als alle

dochtercellen van deze Troy-cellen. Daarna laten we de muizen voor een maand, 60 dagen, 180 dagen of 360 dagen leven en vervolgens worden ze gedood. Dan isoleren we de nieren en beoordelen met een fluorescentie microscoop of er een of meerdere stamcellen betrokken zijn bij de vorming van het specifieke nefronsegment dat gevormd wordt uit Troy positieve stamcellen. Ook kunnen we met andere markers beoordelen welk segment (bijv. proximale tubulus, distale tubulus, verzamelbuis) van het nefron ze precies hebben gevormd. 2) In het tweede experiment, gaan we in principe hetzelfde doen als het eerste experiment, met een belangrijk verschil: we injecteren tamoxifen bij volwassen muizen, 35 dagen na geboorte. Dus vanaf dat moment, brengen we op dat moment Troy+ cellen een gekleurd eiwit tot expressie. Vervolgens laten we de muizen voor 90 dagen, 180 dagen of 360 dagen leven, waarna ze gedood worden. Op deze manier kunnen we zien wat de rol van Troy- cellen zijn tijdens homeostase in de volwassen nier.

Titel studie: Characterisation of Troy cells in the kidney

DEC nummer: 2014.II.03.021

Karakterisering van de Troy positieve stamcel in de nier

Achtergrond: Stamcellen vormen een interessant therapeutisch aangrijpingspunt om nierherstel te bevorderen na schade. Karakterisering van nierstamcellen en het ophelderen van de regulerende mechanismen vormen een belangrijke stap in de ontwikkeling van stamcel gemedieerde therapieën om nierschade te genezen. Wij hebben recent laten zien dat het eiwit Troy stamcellen

identificeert in diverse organen waaronder de nier. Met behulp van een speciale genetische techniek hebben wij laten zien dat tijdens nierontwikkeling een klein aantal cellen dat het eiwit Troy tot expressie brengt, uiteindelijk een deel van de nier vormt. Dit maakt Troy in potentie een stamcel. Bovendien lijken in de volwassen nier Troy cellen bij te dragen aan de normale celvervanging. De mechanismen betrokken bij de vorming, deling en specialisatie van deze stamcellen zijn nog niet bekend. Daarom willen wij de Troy-positieve stamcellen beter karakteriseren, om daarmee uiteindelijk een bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van stamcel gemedieerde therapieën om nierschade te genezen.

Doel/hypothese: Hypothese: Troy positieve cellen zijn de voorlopercellen van een bepaald deel of bepaalde delen van de nier Doel: Evaluatie van de genexpressie van Troy positieve niercellen om zo inzicht te krijgen in welke factoren bij de ontwikkeling van deze stamcellen betrokken zijn en deze stamcellen te kunnen plaatsen in de reeks van ongespecialiseerde stamcel tot gespecialiseerde niercel. Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek maken wij gebruik van proefdieren omdat er op dit moment geen alternatieven voor handen zijn om deze specifieke nierstamcellen te verkrijgen. Voor het verkrijgen van Troy positieve nierstamcellen uit embryonale muizen nieren maken wij gebruik van Troy-EGFP-IRES-CreERT2 muizen. Door deze genetische aanpassing zijn de Troy positieve cellen groen en deze genetische aanpassing zit in 75% van de muizen die we verkrijgen met de fok die we inzetten. Bij de geboorte worden de muizen gedood en wordt onder de microscoop gekeken welke muizen gedeeltelijk groen zijn. Met FACS zullen de Troy-positieve van de Troy-negatieve

cellen worden gescheiden en vervolgens wordt het gen-expressiepatroon van de twee groepen geanalyseerd en vergeleken.

Titel studie: Circadian rhythms in heart failure

DEC nummer: 2014.II.03.022

24-uurs ritmes in chronische hartfalen

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 hartschade heeft op deze ritmes is onduidelijk.

Doel/hypothese: Hartfalen is nog moeilijk te behandelen. Aangezien circadiane ritmes belangrijk lijken te zijn in het hart, willen wij onderzoek doen naar circadiane ritmes in een muis-model met hartfalen. Met de gegevens uit deze proef, kunnen we een plan maken om de circadiane ritmes zo slim mogelijk te gebruiken en bijvoorbeeld therapie bij hartfalen aanpassen.

Globale aanpak vraagstelling: In ons experiment willen we zien of er in muizen met hartfalen verstoring in circadiane ritmes bestaan. 28 Dagen na hartinfarct (hartfalen), zullen wij de muizen doden op zeven verschillende tijdstippen, tijdens dag en nacht (elke ~3.5uur). Voor dit experiment zijn proefdieren helaas noodzakelijk. In onderzoek op cellen is aangetoond dat dag-nachtritmes van groot belang zijn voor het hart. Bij een hartinfarct, maar ook circadiane ritmes in het lichaam, spelen vele complexe bekende en

onbekende processen een rol. Om het effect van hartfalen op dag-nachtritmes te onderzoeken moet er daarom helaas gebruik gemaakt worden van een 'echt' hartinfarct.

Titel studie: Het effect van pollen op RSV infectie

DEC nummer: 2014.II.03.024

Het effect van pollenkorrels op respiratoire infecties

Achtergrond: Eerdere studies hebben laten zien dat bepaalde bestanddelen (de niet-eiwitten) in pollenkorrels een effect kunnen hebben op het immuunsysteem. Hierbij worden mediators geremd die een belangrijke rol spelen bij de bestrijding van virussen.

Doel/hypothese: In deze studie willen we onderzoeken of blootstelling aan bepaalde bestanddelen van pollenkorrels het verloop van respiratoire infecties kan beïnvloeden. De hypothese is dat blootstelling aan pollenkorrels tijdens infectie de klaring van het virus remt en dat muizen langzamer herstellen van de infectie.

Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van pollenkorrels op respiratoire infecties te onderzoeken wordt een muismodel voor respiratoir syncytieel virus (RSV) gebruikt. De muizen worden via de neus geïnfecteerd met virus. Voor, tijdens en na deze infectie worden de muizen via de neus behandeld met een waterige oplossing die bepaalde bestanddelen van pollenkorrels bevat. Op dag 4, 6 en 10 na infectie worden de muizen gedood. Een belangrijk symptoom van RSV infectie in muizen is gewichtsverlies. Daarom worden de dieren iedere dag gewogen. Verder worden de hoeveelheid virus en aantal/soort immuuncellen in de longen bepaald. De inzet van

proefdieren voor deze studie is nodig omdat er veel verschillende factoren/cellen betrokken zijn bij het bestrijden van virussen. De interactie tussen deze cellen/factoren is niet in vitro na te bootsen, daarom willen we gebruik maken van een muismodel.

Vergadering 16 april 2014

Titel studie: Effect van galacto-oligosaccharide alleen en in combinatie met verschillende doses budesonide in een huisstofmijt geïnduceerd allergie model

DEC nummer: 2014.II.04.026

Effect van specifieke suikers alleen en in combinatie met verschillende doses corticosteroiden in een huisstofmijt geïnduceerd muizen allergie model

Achtergrond: Astma is een chronische ontstekings-ziekte van de luchtwegen, die gekarakteriseerd wordt door veranderingen in het longweefsel. Patiënten met astma worden behandeld met corticosteroiden 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 darm-bacteriën 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 specifieke suikers (oligosachariden) alleen of in combinatie met verschillende doses corticosteroiden op het ontwikkelen van allergische astma. Om zo dicht mogelijk de situatie in astmapatiënten na te bootsen, 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 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 verschillende doses corticosteroiden. Aan het eind van het experiment wordt de luchtwegweerstand gemeten en wordt er gekeken naar de mate van ontsteking in de longen. Er worden hier metingen aan proefdieren verricht omdat het niet mogelijk is om dergelijke experimenten meteen in mensen uit te voeren. Wel worden dezelfde uitleesparameters gebruikt als bij de mens.

Titel studie: Het onderzoeken van de cel-gemedieerde effecten van galacto-oligosacchariden op huisstofmijt geïnduceerde allergie en de bijdrage van de regulatoire T cel

DEC nummer: 2014.II.04.027

Het onderzoeken van de cel-gemedieerde effecten van specifieke suikers op een huisstofmijt geïnduceerde allergie en de bijdrage van de regulerende T lymfocyten

Achtergrond: Astma is een chronische ontstekingsziekte van de luchtwegen, die gekarakteriseerd wordt door veranderingen in het longweefsel. Patiënten met astma worden behandeld met corticosteroïden. Dit medicijn heeft ernstige bijeffecten. 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 oligosacchariden (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 oligosaccharide zou de darmflora in positieve zin bevolkt kunnen worden en ziekte beelden zoals allergie kunnen onderdrukken.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het onderzoeken of er na een preventief dieet van deze

specifieke suikers (oligosacchariden) geheugen cellen van het immuunsysteem geproduceerd worden die, na overspuiten naar andere muizen, astma symptomen kunnen verminderen/voorkomen in deze muizen. Tevens willen we kijken naar de rol van regulerende T lymfocyten in astmatische muizen door deze te injecteren met een antilichaam die zorgt voor de vermindering van deze T lymfocyten. 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 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 oligosacchariden (specifieke suikers). Er wordt gekeken of er geheugen cellen van het immuunsysteem worden geproduceerd die na overspuiten in andere muizen de symptomen van astma kunnen verminderen/voorkomen. En ook wordt de rol van regulatoire T cellen onderzocht door middel van antilichaam injectie, in muizen die controle dieet krijgen of een suiker (oligosaccharide) dieet. Aan het eind van het experiment wordt de luchtwegweerstand gemeten en wordt er gekeken naar de mate van ontsteking in de longen. Er worden hier metingen aan proefdieren verricht omdat het niet mogelijk is om dergelijke experimenten meteen in mensen uit te voeren. Wel worden dezelfde uitleesparameters gebruikt als bij de mens.

Titel studie: The effect of MPO and its inhibition in myocardial infarction

DEC nummer: 2014.II.04.028

Een nieuw medicijn voor patiënten die lijden aan een acuut hartinfarct

Achtergrond: Bij een hartinfarct krijgt een deel van de hartspier tijdelijk geen zuurstof en voedingsstoffen. Om deze schade zoveel mogelijk te beperken worden patiënten met een hartinfarct zo snel mogelijk gedotterd, waarbij de bloedstroom naar dat deel van de hartspier hersteld wordt. Echter, de plotselinge toestroom van zuurstofrijk bloed en de aanwezigheid van dode of aangetaste cellen die opgeruimd moeten worden, leidt tot een ontstekingsreactie die op zichzelf de hartspier kan aantasten. Hierbij zijn ontstekingscellen betrokken die beschadigende stoffen en enzymen uitscheiden. Het is daarom noodzakelijk dat we een medicijn vinden dat deze ontstekingsreactie tegengaat en zo leidt tot een verbeterde hartfunctie na hartinfarct.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om dit nieuwe middel te testen in varkens om te zien welk effect het heeft op de ontstekingsreactie en pompfunctie na hartinfarct. De hypothese is dat dit middel de ontstekingsreactie in het hart tegengaat en zo leidt tot een verbeterde pompfunctie en beter herstel van het hart na hartinfarct.

Globale aanpak vraagstelling: Varkens zullen worden behandeld met het medicijn of met een placebo nadat ze zijn onderworpen aan een hartinfarct. Varkens zijn het beste vergelijkbaar met mensen m.b.t. de gevolgen van een hartinfarct. In deze studie wordt gekeken naar

de aanwezigheid van ontstekingscellen en infarctgrootte drie dagen na een hartinfarct en naar de pompfunctie vier weken na een hartinfarct. Dit is een belangrijke stap op weg naar een klinisch toepasbare behandeling.

Titel studie: Comparison of systemic rapamycin treatment to subcapsular microsphere injections with a similar rapamycin load during chronic kidney disease

DEC nummer: 2014.II.04.029

Onderscheid tussen het effect van dosisvermindering en lokale afgifte van rapamycine tijdens nierproblemen

Achtergrond: Rapamycine is de naam van een medicijn dat ingrijpt op een stofwisseling en energiebesteding signaleringsmechanisme in niercellen. In eerder onderzoek hebben wij gezien dat rapamycine injecties nierschade verminderen maar bijwerkingen geven. Plaatsing van synthetische bolletjes, geladen met rapamycine onder het nierkapsel (een vliesje om de nier heen) zorgden voor lokale afgifte en gaven lokale verbetering zonder bijwerkingen (in tegenstelling tot injecties van rapamycine in de bloedsomloop, ook wel systemisch genoemd). De hoeveelheid rapamycine in de bolletjes bedroeg de helft van de systemisch toegediende dosis en het is nu niet helemaal duidelijk of de vermindering van bijwerkingen komt door halvering van de dosis, of door de lokale afgifte.

Doel/hypothese: Onderzoeken of de vermindering in bijwerkingen veroorzaakt wordt door een verlaging van de dosis of door de lokale afgifte. Onze hypothese is dat

een verlaging van de systemische dosis leidt tot minder bescherming tegen nierschade maar nog steeds bijwerkingen geeft.

Globale aanpak vraagstelling: Wij willen nu in ratten een systemische hoeveelheid rapamycine inspuiten welke gelijk is aan de met de bolletjes lokaal afgegeven hoeveelheid in het eerdere experiment. Dit doen we bij ratten waar de linker nier van is afgebonden, waardoor nierschade ontstaat. Deze nierschade wordt echter door de rapamycine verminderd (ten opzichte van ratten die niet met rapamycine zijn behandeld). Door vervolgens de hoeveelheid bijwerkingen te vergelijken met de eerdere experimenten is te bepalen of vermindering van de bijwerkingen komt door de lagere dosis of door de lokale afgifte.

Titel studie: The effect of CTGF reduction during early phase of Renal Ischemia Reperfusion injury

DEC nummer: 2014.II.04.030

Het effect van bindweefsel groeifactor vermindering op de ontwikkeling van schade na een blokkade van de bloedtoevoer van de nier

Achtergrond: Nierschade gaat gepaard met ontsteking. Meestal leidt ontsteking tot verlittekening. Een veel gebruikt model voor de ontwikkeling van ontsteking in de nier is het kortstondig stoppen van de bloedsomloop (ischemie/reperfusie, I/R). In eerder onderzoek zagen wij dat muizen met minder bindweefselgroeifactor (CTGF) ver na de I/R schade ook minder verlittekening hadden. Of dit komt omdat ze minder ontsteking hadden weten

we echter niet. Om dit te onderzoeken willen we in muizen met verminderde hoeveelheden van CTGF direct na de I/R schade kijken naar de hoeveelheid ontsteking. In een latere fase, maar nog voor de eindfase van het eerdere experiment gaan wij kijken of de hoeveelheid ontsteking aan de hoeveelheid verlittekening te koppelen is.

Doel/hypothese: Wij verwachten dat muizen met minder CTGF in het begin minder ontsteking hebben waardoor ze uiteindelijk minder verlittekening hebben in de nier.

Globale aanpak vraagstelling: We gebruiken muizen waarvan het genetische materiaal (DNA) zo is aangepast dat ze op een gewenst tijdstip stoppen met het maken van CTGF. Nadat wij deze productie gestopt hebben opereren we de muizen en stoppen we tijdelijk de bloedtoevoer van de nier (25 minuten). Na 2 dagen en na 2 weken bekijken we vervolgens de nieren van de muis en schatten we de hoeveelheid ontsteking en verlittekening in. Bij de ontwikkeling van nierschade en verlittekening zijn vele factoren en verschillende typen van cellen/weefsels betrokken. Helaas is het momenteel nog niet mogelijk om deze complexe eiwitinteracties en processen tijdens ziekten anders dan in proefdieren te onderzoeken.

Titel studie: Weefsel extractie van *Anolis carolinensis*

DEC nummer: 2014.II.04.031

Onderzoek van het afweerapparaat van reptielen

Achtergrond: Reptielen hebben een afweerapparaat dat overeenkomsten heeft met dat van de mens. Maar omdat het een “oude” vorm is, vinden we daar basale onderdelen die bij de mens verder zijn ontwikkeld. Reptielen worden zelden ziek van bacteriën (bv. *Salmonella*) en blijkbaar kan hun immuunapparaat effectief met bacteriën omgaan.

Kennis van het afweersysteem van reptielen kan ons helpen te begrijpen waarom mens en “hogere” dieren wél ziek worden van bacteriën. En met die kennis kunnen we bv vaccins ontwikkelen of andere methoden of stoffen ontwikkelen om infectieziekten te bestrijden.

Doel/hypothese: We richten ons met name op één onderdeel van het afweersysteem, de Toll receptor (TLR5) omdat deze bij de mens een belangrijke rol speelt bij de (soms falende) afweer tegen bacteriën. Het doel is om de functie van dit onderdeel in reptielen te bepalen en te kijken hoe en waarom dit anders is dan bij de mens.

Globale aanpak vraagstelling: Uit voorwerk blijkt dat reptielen, net als de mens en “hogere” dieren een TLR5 hebben. Maar hoe dit er precies uitziet en werkt, kunnen we alleen te weten komen als we deze uit reptielen en verschillende van die dieren, isoleren. Het voorwerk dat zonder dieren plaats kon vinden hebben we uitgevoerd. In dit experiment worden hagedissen gedood waarna uit verschillende weefsels TLR5 wordt geïsoleerd en geanalyseerd.

Titel studie: The role of pDCs in the mouse model of SSc (Scl-GvHD) that recapitulate the main features of SSc in human

DEC nummer: 2014.II.04.032

De rol van plasmacytoïde 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 plasmacytoïde 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 het ontstaan en ontwikkelen 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 zullen 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 cen-

trale rol zien van de pDCs in de pathogenese van SSc. Het doel van deze studie is om pDCs te onderzoeken gedurende de vroege en late fase van ontsteking bij SSc. Globale aanpak vraagstelling: We zullen een muismodel voor SSc gebruiken om de rol van pDCs in SSc te bestuderen. Het model is een 'spontaan model', het Scl-GVHD model, een graft-versus-host-disease (GVHD) model waarbij donorcellen (de graft) een afweerreactie vertonen tegen het weefsel van de ontvanger (de host). In dit model leidt deze reactie uiteindelijk tot verbindweefseling van de huid en interne organen, waarbij met name de vroege ontstekingsreactie gelijkenis vertoont met het proces dat plaatsvindt in SSc patiënten. Voor dit experiment worden muizen eerst bestraald, waarbij de lichaamseigen afweercellen dood gaan. Daarna ontvangen de muizen beenmerg en miltcellen van een donor muis. Deze cellen worden niet helemaal als lichaamseigen herkend waardoor er een ontstekingsreactie ontstaat na twee weken. Deze reactie veroorzaakt een milde verbindweefseling na vier weken en worden de muizen gedood. Cellen worden geïsoleerd uit verschillende organen (huid, long, beenmerg, bloed, milt en lymfeklieren) en verder bestudeerd op de aanwezigheid van verschillende typen afweercellen, met name de pDCs. Dit model is een geaccepteerd model voor het bestuderen van deze processen die een rol spelen in SSc. Op deze manier kunnen we aantonen of de pDCs verhoogd zijn en in welke verschillende organen ze aanwezig zijn. Tevens zullen we kunnen bepalen of de cellen in 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

verbindweefseling 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 dus nog 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: Bepalen van de sensitisatiecapaciteit van gemodificeerde koemelkeiwitten (wei) in een muismodel voor koemelkallergie

DEC nummer: 2014.II.04.033

Onderzoeken van de sensitisatiecapaciteit (eigenschap om muizen gevoelig te maken voor een eiwit) van aangepaste koemelkeiwitten in een muismodel voor koemelk allergie

Achtergrond: Er is momenteel nog geen goede behandel-methode voor kinderen met een (ernstige) voedselallergie. Het ontwijken van de eiwitten die de allergie veroorzaken (allergenen), in dit geval koemelk-eiwitten, is dan de enige optie om de ziekte te voorkomen. In deze studie wordt onderzocht of aangepaste (gemodificeerde) melkeiwitten nog de eigenschappen bezitten om een muis gevoelig te maken voor het allergeen (= sensibiliseren). Indien de eiwitten de potentie om een muis te sensibiliseren verliezen, dan betekent dit dat de eiwitten in principe veilig zijn (de kans op een anaphylactische shock wordt verminderd) voor het

gebruik in hoog risico kinderen en/of allergische kinderen. Doel/hypothese: De overgebleven sensitisatiecapaciteit bepalen van gemodificeerde koemelkeiwitten. Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden al dan niet allergisch gemaakt voor wei-eiwitten door middel van orale gavage. De interventie (behandel) groepen worden behandeld met de gemodificeerde eiwitten. Na challenge met het hele eiwit wordt onderzocht of de muizen gesensitiseerd zijn.

Titel studie: *Optimal dose finding of preventive treatment with tolerogenic peptides and effects of dietary supplementation with prebiotics on the dosing; *Effects of dietary supplementation with pre-, pro- and syn-biotics on the preventive treatment of cow's milk allergy with tolerogenic peptides

DEC nummer: 2014.II.04.034

Preventieve behandeling met kleine eiwitfragmenten en pre-, pro- of synbiotische dieet voor koemelkallergie

Achtergrond: Eerdere studies hebben laten zien dat preventieve (voordat de dieren allergisch 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. Verder is het nog niet getest wat de optimale dosering van de fragmenten is om tolerantie te induceren. In combinatie met een prebiotisch dieet werd het effect van een van de mixen verstrekt. Een voorbeeld van

prebiotica zijn de galacto- en fructooligosachariden. 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 zijn 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 onderzoeken wat de optimale dosering van de eiwitfragmenten is om tolerantie te induceren en om te testen of een prebiotisch, probiotisch of synbiotisch (combinatie van pre- en probiotica) dieet in staat is 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 staan de dieren op controle of een specifiek dieet met prebiotica, probiotica of synbiotica. Tijdens inductie van allergie tegen koemelk staan alle dieren op 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 verder onderzoeken wat onmogelijk is in de mens.

Titel studie: Abberation of Runx3 associated with increased number of plasmacytoid dendritic cells in Systemic sclerosis

DEC nummer: 2014.II.04.035

De rol van Runx3 in de pathogenese van Systemische Sclerose (SSc)

Achtergrond: Systemische sclerose (SSc) is een ernstige auto-immuun ziekte 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 dat het immuunsysteem, en meer specifiek bepaalde immuuncellen genaamd plasmacytoïde dendritische cellen; pDCs) een belangrijke rol spelen. Deze pDCs zijn niet alleen in hoge getallen aanwezig in SSC patiënten, maar zijn ook in staat om grote hoeveelheden ontstekingsbevorderende eiwitten te produceren. In het Bleomycine model worden de dieren blootgesteld aan Bleomycine, wat na herhaaldelijke toediening tot een abnormale toename van bindweefsel (fibrose) leidt. Recente studies van onze onderzoeksgroep laten zien dat het eiwit Runx3 correleert met de hoge aantallen van pDCs in SSC patiënten. Het eiwit Runx3 zou mogelijk een factor kunnen zijn die

de hoge aantallen van pDC in SSC veroorzaakt.

Doel/hypothese: Het doel is de rol van Runx3 in het ontstaan van SSc te onderzoeken in een muizenmodel voor SSc; het Bleomycine model. Om aan te tonen dat Runx3 een belangrijke rol speelt in het ontstaan van SSc bestuderen we de ontwikkeling van SSc in muizen waarbij specifiek het Runx3 eiwit uitgeschakeld is in bepaalde immuuncellen.

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 Runx3 willen bestuderen gebruiken we muizen waarbij Runx3 normaal aanwezig is, en muizen waarbij Runx3 uitgeschakeld is. In deze studie zullen we muizen met Bleomycine behandelen. Omdat de injecties zelf een klein beetje ontsteking en huidverdikking kunnen veroorzaken, is het gebruik van controle groepen waarbij alleen een zoutoplossing toegediend zal worden noodzakelijk. De muizen zullen zeven dagen per 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 gedood. Daarna zullen we huid, longen en 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, waar-

bij 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, maar er is dus nog 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.

Vergadering 14 mei 2014

Titel studie: Bepalen van het moment waarop *Staphylococcus aureus* voor het eerst gedetecteerd kan worden in de neus van het varken en de interactie met andere microorganismen

DEC nummer: 2014.II.05.036

Bepalen van het moment waarop de *Staphylococcus aureus*-bacterie voor het eerst gevonden kan worden in de neus van het varken en de invloed van de aanwezigheid van andere bacteriën

Achtergrond: *Staphylococcus aureus* (en met name de variant die resistent is tegen veel antibiotica: MRSA) is een bacterie die bij mensen infecties kan veroorzaken die lastig te behandelen zijn. Vaak is deze bacterie afkomstig van vee, met name varkens zijn een belangrijke bron. Er is veel bekend over deze bacterie, maar niet wanneer deze voor het eerst na geboorte bij het varken gevonden kan worden. Ook zijn er aanwijzingen dat - net als bij mensen - de aanwezigheid van andere typen bacteriën er voor kan zorgen dat *Staphylococcus aureus* wel of niet kan aanhechten in de neus van het varken.

Doel/hypothese: In dit experiment onderzoeken we wanneer de *Staphylococcus aureus*-bacterie voor het eerst in de neus van het varken gevonden kan worden en of het verschijnen van deze bacterie samengaat met de aan- of afwezigheid van andere bacteriën.

Globale aanpak vraagstelling: Net na geboorte worden acht biggen met een wattenstaafje in de neus

bemonsterd. Er wordt bepaald hoeveel van de Staphylococcus aureus-bacterie er in dit monster aanwezig is en welke andere bacteriën aanwezig zijn. Na 8, 16 en 24 uur wordt deze monsternamen nogmaals uitgevoerd en vervolgens de daarop volgende drie weken dagelijks herhaald. Daarna wordt de monsternamen éénmaal per week uitgevoerd (tot de leeftijd van 6 weken) om veranderingen in bacteriesoorten die aanwezig zijn in kaart te brengen. Omdat hier bepaald wordt wanneer de Staphylococcus aureus-bacterie voor het eerst bij een varken aanwezig is zal dit onderzoek moeten worden uitgevoerd bij varkens. Het is daarom niet mogelijk dit vraagstuk zonder proefdieren op te helderen.

Titel studie: Mechanismen van immunomodulatie na in ovo injectie van een dier-specifiek antimicrobieel en immunomodulerend peptide

DEC nummer: 2014.II.05.037

Invloed op het immuunsysteem van toediening van een klein eiwit in bevruchte kippeneieren, afgeleid van een natuurlijk onderdeel van het aangeboren immuunsysteem van de kip

Achtergrond: Infecties zijn een groot probleem in de pluimveehouderij. Ze leiden tot een economisch verlies van 10-20% in de wereldwijde pluimveesector en kunnen daarnaast gevaar opleveren voor de gezondheid van de mens en de veiligheid van kippenvlees. Bij infecties met bacteriën worden kippen behandeld met antibiotica, maar door het grootschalige en foutieve gebruik hiervan in de afgelopen tientallen jaren is de werkzaamheid hiervan

sterk vermindert. Er wordt daarom gezocht naar alternatieven voor een behandeling met antibiotica. Wij doen onderzoek naar een groep eiwitten die van nature voorkomt in het aangeboren immuunsysteem van de kip. Wij geloven dat deze eiwitten ontwikkeld kunnen worden tot alternatieven voor antibiotica. In het afgelopen jaar hebben we aangetoond dat deze eiwitten kippen inderdaad kunnen beschermen tegen een infectie met ziekmakende bacteriën. De manier waarop deze eiwitten zorgen voor bescherming is nog onduidelijk. Het achterhalen van deze werking is wel nodig voor het verder ontwikkelen van deze eiwitten tot medicijnen in de toekomst. Uit eerder onderzoek in andere diersoorten geloven we dat de werking te maken heeft met de invloed op het immuunsysteem van de kip. In dit experiment willen we graag de precieze invloed van het kleine eiwit op het immuunsysteem van de kip achterhalen.

Doel/hypothese: Doel: Het achterhalen van de werking van een klein eiwit op het immuunsysteem van de kip.

Hypothese: Wanneer een klein eiwit, afgeleid van een van nature voorkomend eiwit in het aangeboren immuunsysteem van de kip, wordt toegediend aan kippen, zal de werking van immuunsysteem van deze dieren veranderd worden.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit experiment worden kippen nog in het ei behandeld met een klein eiwit of met een controle oplossing. Nadat de eieren uitkomen, worden de kuikens in groepen gehouden. Eén week na uitkomst worden de kuikens gedood en wordt er gekeken naar de verschillen in de werking van het immuunsysteem tussen de twee groepen. Het immuunsysteem is een ingewikkeld systeem, dat in het laboratorium nog

niet nagebootst kan worden. Invloed van het door ons onderzochte eiwit moet daarom nu nog in een proefdier worden getest worden.

Titel studie: Balance between CD4 T cells and CD8 T cells after cross priming of model drugs in drug delivery systems by antigen presenting cells

DEC nummer: 2014.II.05.038

Effect op de balans van het adaptieve immuunsysteem door inpakmanieren van instabiele medicijnen

Achtergrond: In de afgelopen jaren zijn er steeds meer biopharmaceuticals op de markt gekomen. Dit nieuw type medicijn, bestaande uit synthetische stoffen die ook natuurlijk kunnen voorkomen in het lichaam, kunnen specifiek op de ziektebeelden inspelen en dit bevordert de veiligheid en werkzaamheid van nieuwe medicijnen op de markt. Er zijn Drug Delivery systemen (inpakmanieren) in ontwikkeling. In deze Drug Delivery systemen zullen dan de biopharmaceuticals verpakt worden om zo toch hun locatie te bereiken. Echter is het nog onduidelijk wat het effect van deze drug delivery systemen heeft op de balans in immuunactivatie tegen het medicijn wat hij bij zich draagt.

Doel/hypothese: Doel van experiment is een studie te doen naar wat de mogelijke effecten zijn op het immuunsysteem van de aflevering van het medicijn in de cel door verschillende inpakmanieren van een medicijn.

Globale aanpak vraagstelling: Muizen krijgen eerst immunologische helper cellen (die helpen antistoffen te maken) en immunologische killer cellen (die een indringer

zelf kunnen opruimen) van een andere muis die allemaal het model eiwit herkennen. Vervolgens wordt de muizen een model eiwit gegeven die op zichzelf alleen immunologische helper cellen kan activeren. Ook wordt het model eiwit ingepakt in twee verschillende drug delivery systemen (inpakmanieren). Na een aantal dagen (3, 5, 7 en 10 dagen) wordt er gekeken in de muis wat de balans is tussen de T helper cellen en de killer T cellen. Wegens de complexiteit van de mechanismen die adaptieve immunresponsen veroorzaken is het onmogelijk om de vraagstellingen van deze studie te beantwoorden anders dan met het gebruik van proefdieren. Echter de data die uit deze studie verkregen worden, zullen van belang zijn bij het voorkomen van immunoreacties ten gevolge van het gebruik van drug delivery systemen. Bovendien zal het belangrijke inzichten geven in de regulatie van het type immunreactie, wat toegepast kan worden bij het bestuderen van andere ontstekingsziekten en auto-immuniteit. Door het gebruik van een transfer van cellen van muizen die al zijn T cellen van het immuunsysteem al specifiek heeft tegen het modelmedicijn dat we willen testen, kunnen we minder immuun activerende eiwitten gebruiken om een meetbare immuunresponse te krijgen, waardoor de muizen minder last hebben van het model drug eiwit.

Titel studie: IL4-10 synerkine to inhibit immunopathology in systemic sclerosis

DEC nummer: 2014.II.05.039

Voorkomen van immunopathologie in systemische sclerose door IL4-10 synerkine

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 vroegtijdig overlijden. De oorzaak van SSc is tot op heden onbekend, alhoewel meer bewijs lijkt te komen voor een belangrijke rol van het immuunsysteem. Middelen om dit ontstekingsproces en de fibrose te voorkomen zijn niet voorhanden. We hebben een zeer potent ontstekingsremmend medicijn ontwikkeld dat de eigenschappen van twee ontstekingsremmende cytokines combineert: IL4-10 synerkine. Dit fusie eiwit van de twee cytokines IL4 en IL10, is in staat om in celkweken en ook in muizenmodelen voor pijn zeer goed ontsteking en pijn te remmen. Het doel van de huidige studie is te onderzoeken of activatie van immuuncellen in een diermodel voor SSc kan worden voorkomen en of dit leidt tot preventie van fibrose.

Doel/hypothese: Het onderzoeken van de ontstekingsremmende en anti-fibrotische capaciteit van IL4-10 synerkine in het Bleomycine muizenmodel voor SSc. Daarbij zal het IL4-10 synerkine worden vergeleken met de combinatie van IL4 en IL10 om de meerwaarde te 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. De muizen zullen zeven dagen per week, gedurende vier weken geïnjecteerd worden met Bleomycine of controle zoutoplossing. Om de capaciteit van IL4-10 synerkine te testen zullen we muizen behandelen met het IL4-10 synerkine, en een andere groep muizen met een combinatie van de afzonderlijke cytokines (IL4 en IL10). Dit laatste om de meerwaarde ten opzichte van het IL4-10 synerkine te bestuderen. Omdat de injecties zelf ook een lichte ontsteking en huidverdikking als gevolg kunnen hebben, is het gebruik van een controle groep waarbij alleen een zoutoplossing toegediend zal worden eveneens noodzakelijk. De muizen zullen wekelijks gewogen worden, en als maat voor de verbindweefseling zal ook de huiddikte gemeten worden. Omdat de fases waarin behandeld wordt cruciaal kunnen zijn zullen we in een vroege en een late fase van de ziekte kijken naar het effect van de behandeling. De helft van de groepen zal na 1 week (tussen dag 7- 10; na acute fase van de ontsteking) gedood worden, de andere helft na vier weken (chronische fase van ontsteking). Eerst zal onder verdoving bloed worden afgenomen, waarna de muizen worden gedood. Hierna worden van de muizen huid, oren, longen, milt, lymfeklieren, en beenmerg weefsels geïsoleerd voor latere testen op aanwezigheid van bepaalde celtypen en eiwitten. Zoals hierboven 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 ernstige invaliditeit en vroege sterfte. De huidige medicatie is

gericht op het vertragen van het ziekteproces, maar er is dus nog geen goede medicatie. De ontwikkeling van nieuwe therapieën is dus zeer gewenst en kan enorm veel betekenen voor de kwaliteit van leven voor de patiënten. De beperkte mate van ongerief weegt daarmee minder zwaar dan de kennis die verkregen kan worden.

Titel studie: Het opzetten van nieuwe immunocompetente tumormodellen

DEC nummer: 2014.II.05.040

Het opzetten van nieuwe kankermodellen in muizen met een intact immuunsysteem

Achtergrond: Veel kankermodellen maken gebruik van dieren met een verzwakt immuunsysteem omdat kankercellen in deze dieren beter uitgroeien. Het immuunsysteem kan echter het effect van behandelingen sterk beïnvloeden. Daarom is het van belang om het effect van de behandelingen te onderzoeken in muizen met een intact immuunsysteem. In onze groep doen we onderzoek naar antistoftherapie. Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor kankerpatiënten. Antistoffen herkennen hun target met een variabel deel en zetten het immuun systeem aan met behulp van hun constante deel. Op basis van hun constante deel kunnen antistoffen ingedeeld worden in verschillende isotypes zoals IgM, IgD, IgG, IgA en IgE. Deze isotypes zetten verschillende immuun functies 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 beter kankercellen kunnen doden dan IgG. Daarnaast hebben we in eerdere dierstudies laten zien dat

IgA-antistoffen tegen een eiwit op kankercellen (EGFR) effectief de groei van deze cellen kunnen remmen. In een muismodel met een intact immuunsysteem lijkt het effect van IgA zelfs groter te zijn dan van IgG. In vervolgstudies willen we dit graag onderzoeken voor andere kanker-specifieke antistoffen. Daarom willen nieuwe kankermodellen opzetten in muizen met een intact immuunsysteem. Hiervoor hebben we nieuwe kankercellen gemaakt die ook in muizen met een intact immuunsysteem uitgroeien. In deze studie willen we testen of deze cellen geremd worden door de IgG antistoffen die al op de markt zijn en bepalen hoeveel antistof we nodig hebben om de muizen effectief te behandelen. Daarnaast hebben we tijdens experimenten in het lab ontdekt dat de combinatie van IgG en IgA antistoffen potentieel effectiever is dan de antilichamen afzonderlijk. Dit werkt echter alleen als er antistoffen tegen verschillende targets worden gebruikt. Om de potentie van deze combinatie verder te onderzoeken willen we tevens een nieuw kort model opzetten. Hiervoor hebben we nieuwe kankercellen gemaakt die twee tumortargets tot expressie brengen. In deze studie willen we bepalen of deze cellen gevoelig zijn voor IgG en IgA therapie en de suboptimale concentratie bepalen zodat we in een volgende studie de combinatie kunnen testen. Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het opzetten van meerdere nieuwe kankermodellen in muizen met een intact immuunsysteem. De hypothese is dat de kankercellen uitgroeien zonder behandeling met IgG/IgA antistoffen, maar dat in behandelde muizen de uitgroei geremd wordt.

Globale aanpak vraagstelling: In het eerste model worden de kankercellen intraveneus ingespoten in de muis. De

kankercellen zijn gelabeld waardoor we de groei van de cellen in levende muizen kunnen volgen. Op dezelfde dag worden de muizen behandeld met verschillende concentraties IgG antistoffen. De groei van de kankercellen wordt gedurende drie weken gevolgd. Na drie weken worden de dieren gedood en wordt het aantal kankercellen in de longen geteld. In het tweede model worden twee verschillende kankercellen, één met de tumortargets en één zonder de targets, op verschillende manieren gelabeld, gemixt en vervolgens in de buikholte van de muis ingespoten. Dezelfde dag worden de muizen met verschillende concentraties antistoffen behandeld (injectie in buikholte). Een dag later worden de muizen gedood en wordt het aantal kankercellen in de buikholte bepaald. Voor de effectiviteit van antistoftherapie is het belangrijk dat de antistoffen de kankercellen bereiken en dat de juiste immuuncellen aanwezig zijn/aangetrokken worden. Dit kan alleen getest worden in proefdieren. Het gebruik van proefdieren is dus noodzakelijk.

Titel studie: Verzamelen van muismateriaal voor in vitro testen

DEC nummer: 2014.II.05.041

Verzamelen van muismateriaal voor experimenten in het lab

Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor verschillende aandoeningen, zoals kanker, auto-immuunziektes en infecties. Om de behandeling te optimaliseren is het van belang om meer te weten te komen over het werkingsmechanisme. Hiervoor gebruiken we verschillende experimentele- en

diermodellen. Voordat we de effecten van antilichamen in diermodellen testen, willen we de antilichamen eerst in het lab testen met muiszellen om te onderzoeken of we vergelijkbare effecten zien als met cellen van mensen. Echter voor deze testen hebben we cellen uit de muis nodig die alleen uit bloed of beenmerg te verkrijgen zijn. Daarom willen we in deze studie deze materialen verzamelen om verdere experimenten in het lab mee uit te voeren.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het verzamelen van muismateriaal om te gebruiken voor experimenten in het lab om de effecten van antilichamen op cellen van muis en mens te vergelijken.

Globale aanpak vraagstelling: Voor het verzamelen van beenmerg worden de muizen gedood waarna de botten verwijderd worden om beenmerg uit te isoleren. Uit het beenmerg kunnen bepaalde immuuncellen gekweekt worden. Voor het verzamelen van bloed worden de muizen eerst behandeld met een eiwit dat ervoor zorgt dat het aantal witte bloedcellen, voornamelijk neutrofielen, in het bloed stijgt. Vervolgens wordt er vier dagen later onder verdoving bloed worden afgenomen, waarna de muizen worden gedood. Door eerst te onderzoeken of muiszellen hetzelfde effect laten zien als cellen van mensen kunnen onnodige dieronderzoeken met meer ongerief voorkomen worden. Helaas is er geen andere manier mogelijk dan dit te testen met materiaal dat uit muizen afkomstig is.

Titel studie: Het effect van microbioom modulatie m.b.v. synbiotica op RSV specifieke immuun respons in C57BL/6 muizen

DEC nummer: 2014.II.05.042

Effecten van voeding op immuunparameters tijdens respiratoir syncytieel virusinfectie 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 op 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). Eerdere studie hebben laten zien dat een combinatie van deze suikergroepen met bepaalde bacteriën een positief effect heeft op het immuunsysteem en daardoor bijv. allergieën kan beïnvloeden. In dit onderzoek gaan we de effecten van dit dieet op RSV infectie onderzoeken. Hierbij worden verschillende behandelingschema's en verschillende concentraties levende bacteriën getest. 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 een bepaalde voeding, dat veranderingen in de populatie

micro-organismen in de darm kan induceren. In een deel van de dieren wordt de voeding gestopt voordat de muizen geïnfecteerd worden met respiratoir syncytieel virus (RSV). Vervolgens krijgen alle muizen een virale infectie met het RSV. Na de infectie kijken we naar de ontwikkeling van de immuunreactie tegen het virus. Wij kunnen deze experimenten alleen in dieren uitvoeren omdat het complexe systeem van interactie van voeding met darmflora en direct of indirect op het immuunsysteem onmogelijk is na te bootsen in het lab.

Vergadering 11 juni 2014

Titel studie: Rol van type I membraan glycoproteïne CD200 in atherosclerose

DEC nummer: 2014.II.06.043

Effect van CD200 stimulatie op de vorming van atherosclerose in muizen

Achtergrond: Hart en vaatziekten zijn nog steeds een van de belangrijkste doodsoorzaken in de Westerse samenleving. Het kapot scheuren van aderverkalkingsplekken is de meest voorkomende oorzaak van een hartinfarct of beroerte. De huidige behandeling van hart en vaatziekten geeft helaas nog geen genezing van de ziekte. Met de toenemende vergrijzing van de samenleving en daarvoor een groeiend aantal hart en vaatziekte patiënten is het van groot belang dat er gezocht wordt naar efficiënte therapieën die de vorming van aderverkalking (atherosclerose) stabiliseren of zelfs genezen. Naast het feit dat de vorming van aderverkalking gepaard gaat met verhoogde cholesterolwaarden in het bloed, treedt er ook een chronische ontsteking op in de bloedvatwand. Bij de ontwikkeling van nieuwe therapieën gaat veel aandacht uit naar onderdrukking van deze ontstekingsreactie. Doel/hypothese: Door de therapeutisch verhoogde activering van CD200R zal de vorming van atherosclerose aanzienlijk verminderd worden. Globale aanpak vraagstelling: Bij de zoektocht naar een verbeterde therapie voor het ontstaan van aderverkalking richten wij onze aandacht op een remmende immuun receptor CD200. CD200R is een eiwit dat op

het celmembraan van vele ontstekingscellen aanwezig is en de eigenschap heeft om de drempelwaarde voor immuunactivatie te verhogen. Door gebruik te maken van een zogenoemde agonistische (stimulerende) antistof kunnen we de CD200R extra stimuleren waardoor het ontstaan van een ontstekingsreactie sterk verminderd. Door deze antistof toe te passen tijdens de ontwikkeling van aderverkalking zal dus ook de daarbij behorende ontstekingsreactie geremd worden. Dit zal naar verwachting leiden tot een verminderde vorming van aderverkalking. De vorming van aderverkalking is een zeer complex proces waarbij vele ontstekingscellen en cellen van de vaatwand zelf bij betrokken zijn. Door deze complexiteit is het onmogelijk deze situatie na te bootsen in een kweekschaaftje en is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: Bepalen van het risicoprofiel van PA-6 voor het veroorzaken van Torsade de Pointes aritmieën

DEC nummer: 2014.II.06.044

Bepalen van het risicoprofiel van PA-6 voor het veroorzaken van Torsade de Pointes aritmieën

Achtergrond: Boezemfibrilleren is de meest voorkomende chronische hartritmestoornis waar ca. 269.000 Nederlanders aan lijden. De belangrijkste symptomen van boezemfibrilleren zijn hartkloppingen, duizeligheid, en een verminderd uithoudingsvermogen. Belangrijker echter is de hoge kans op een beroerte. Ondanks intensieve opvolging en medicatie om een beroerte te voorkomen, is deze ernstige complicatie alsmede ernstige bloedingen

als direct gevolg van de medicatie (om een beroerte te voorkomen) niet altijd te vermijden. Daarom zijn nieuwe medicamenten (antiaritmica) die het probleem bij de oorzaak aanpakken door het boezemfibrilleren te stoppen, en daarmee het normale hartritme herstellen, hard nodig. Behalve effectief moeten de medicijnen ook veilig zijn, om zo deze kwetsbare patiëntengroep te beschermen tegen ongewenste bijwerkingen. Torsade de Pointes (TdP) is een gevaarlijke hartritmestoornis van de hartkamers die worden opgewekt door verschillende medicijnen, waaronder antiaritmica. Daarom is het belangrijk dat nieuwe en bestaande medicijnen ook getest worden op deze levensbedreigende bijwerking. Het cAVB hondenmodel is een goed gevalideerd en geschikt diermodel. In deze honden kan getest worden of (nieuwe) medicamenten Torsade de Pointes hartritmestoornissen kunnen opwekken.

Doel/hypothese: 1) Het bepalen van de elektrofysiologische effecten (effecten op het hartfilmpje) van het nieuwe medicament PA-6 in honden met een normaal hartritme. 2) Bepalen of het nieuwe medicament PA-6 Torsade de Pointes hartritmestoornissen kan veroorzaken in het cAVB honden model. 3) Bepalen of dofetilide hartritmestoornissen kan opwekken in deze honden (positief controle experiment), danrolene (een medicament tegen hartritmestoornissen) zal vervolgens toegediend worden om te bepalen of dit medicament effectief is tegen deze opgewekte hartritmestoornissen in het cAVB honden model.

Globale aanpak vraagstelling: Hartritmestoornissen zijn een complexe uiting van meerdere factoren op zowel cellulair niveau als op de elektrische geleiding van het

gehele hart in het levende organisme. 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 zal bepaald worden of de infusie van PA-6 hartritmestoornissen veroorzaakt. Om te bepalen of het individuele dier überhaupt gevoelig is voor hartritmestoornissen zal dofetilide toegediend worden om TdP ritmestoornissen op te wekken (dit lukt in 80%), vervolgens zal het antiaritmicum danrolene toegediend worden om de hartritmestoornissen te stoppen. In een laatste experiment zal gekeken worden of het acuut verhogen van de hartfrequentie kan voorkomen dat ectopische slagen (extra hartslagen, te voelen als het 'overslaan' van het hart), opgewekt door dofetilide, kunnen verergeren in een TdP ritmestoornis. De bovenstaande drie experimenten zullen in elk dier getest worden met tussenpozen van minimaal twee weken. Alle procedures zullen plaatsvinden onder algehele narcose. Tijdens het laatste experiment nadat alle experimentele handelingen zijn verricht zal het dier gedood worden, het hart zal gebruikt worden voor weefsel en cellulair analyse/onderzoek.

Titel studie: The function of MicroRNA-132 in angiogenesis after hindlimb ischemia

DEC nummer: 2014.II.06.045

De functie van microRNA-X in vorming van nieuwe bloedvaten na hindlimb ischemia

Achtergrond: Na een hartinfarct probeert het lichaam de schade zo veel mogelijk te beperken door herstel van beschadigd weefsel, met inbegrip van een verhoogde vorming van nieuwe bloedvaten. Verschillende strategieën zijn geprobeerd om bloedvatvorming te verbeteren na een myocardinfarct. MicroRNA, een klein RNA molecuul, is in staat om gelijktijdig invloed uit te voeren op honderden genen, waaronder regulatie van bloedvatvorming. Onze experimenten tonen aan dat microRNA-X tot 5 keer verhoogd is als de bloedtoevoer is gestopt.

Doel/hypothese: MicroRNA-X speelt een rol in de bloedvatvorming, een proces om nieuwe vaten te vormen.

Muizen zonder microRNA-X kunnen last hebben van verminderde bloedvatvorming. Toevoeging van microRNA-X zou de verminderde bloedvatvorming kunnen herstellen.

Globale aanpak vraagstelling: We hebben microRNA-X knockout-muizen die geen microRNA-X-gen in hun genoom hebben. We onderzoeken de functie van de microRNA door het vergelijken van de doorbloeding van de wildtype en knock-out muizen na achterpoot arterie occlusie (het afsluiten van de slagader in de achterpoot). We verwachten dat in de knock-out muizen verminderde bloedvatvorming zichtbaar is. Eerder onderzoek met behulp van kweekmodellen in het laboratorium laten zien dat micro-RNA-X betrokken is in verschillende processen van bloedvatvorming. Het is echter niet mogelijk om het

complexe proces van bloedvatvorming te onderzoeken in kweekmodellen, daarom willen we gebruik maken van het hindlimb ischemia model in muizen. We zien nu al dat microRNA-X de bloedvatvorming bevordert in vitro, dus in het tweede deel van onze studie, testen we of we een microRNA-X-molecuul kunnen gebruiken als medicijn om de vorming van bloedvaten te verbeteren in ischemische ziekten.

Titel studie: The role of CXCL4 in mouse model of SSc - Bleomycin that recapitulate the main features of SSc in human

DEC nummer: 2014.II.06.046

De rol van Chemokine ligand 4 (CXCL4) 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 plasmacytoïde dendritische cellen (pDC's) een belangrijke rol spelen. Deze pDC's zijn cellen van het immuunsysteem. De pDC's circuleren niet alleen in hoge hoeveelheden in het bloed van patiënten, maar scheiden ook hoge concentraties van specifieke pro-inflammatoir chemokine: CXCL4 uit (van Bon et al. NEJM;2013). CXCL4 is betrokken bij vele cruciale immuunreacties die uit balans zijn in SSc

patiënten. Met het uitvoeren van deze dierproeven willen we bewijzen dat CXCL4 inderdaad een centrale rol speelt 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 CXCL4 een rol spelen. 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: Het doel van dit onderzoek is om de rol van CXCL4 te onderzoeken in de pathogenese van SSc. Hiervoor maken wij gebruik van een muismodel voor SSc; het Bleomycine model. Binnen dit model maken wij gebruik van CXCL4 knock-out muizen als ook muizen die humaan CXCL4 tot overexpressie brengen. Globale aanpak vraagstelling: We zullen het Bleomycine geïnduceerde model voor SSc gebruiken om de exacte rol van het specifieke pro-inflammatoire cytokine CXCL4 te bestuderen. Het Bleomycine model is een chemische geïnduceerd model waarbij dieren worden blootgesteld aan Bleomycine dat na herhaaldelijke toediening leidt tot een abnormale toename van bindweefsel (fibrose). Omdat we specifiek de rol van CXCL4 willen bestuderen, gebruiken we muizen waarbij CXCL4 normaal aanwezig is in vergelijking tot muizen die geen CXCL4 tot expressie brengen en muizen die humaan CXCL4 tot overexpressie brengen. Alle drie de groepen zullen behandeld worden met Bleomycine. Omdat de injecties zelf ook een geringe fibrose veroorzaken, is het noodzakelijk om voor alle drie de groepen een controle groep te includeren waarbij alleen zoutoplossing toegediend zal worden. De muizen zullen zeven dagen per 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 gedood. Daarna zullen we verschillende weefsels isoleren, waaronder huid, longen en oor waarop histologische analyses uitgevoerd worden. Daarnaast worden cellen, geïsoleerd uit verschillende organen (huid, long, beenmerg, bloed, milt en lymfeklieren), gekweekt en geanalyseerd. Zoals hierboven 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, maar er is dus nog 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: In vivo effect van gemodificeerde IgA antilichamen in immunocompetente tumormodellen

DEC nummer: 2014.II.06.047

De effectiviteit van aangepaste IgA antistoffen in een muismodel voor kanker

Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelmethode voor kankerpatiënten. Antistoffen herkennen hun target met een variabel deel en zetten het immuunsysteem aan met behulp van hun constante deel. Op basis van

hun constante deel kunnen antistoffen ingedeeld worden in verschillende isotypes zoals IgM, IgD, IgG, IgA en IgE. Deze isotypes zetten verschillende immuun functies 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 beter kankercellen kunnen doden dan IgG. Daarnaast hebben we in eerdere dierstudies laten zien dat IgA-antistoffen tegen een eiwit op kankercellen (EGFR) effectief de groei van deze cellen kunnen remmen. Een nadeel is dat IgA-antistoffen snel uit het lichaam verdwijnen en daardoor vaker toegediend moeten worden dan IgG antistoffen. Door de antistoffen aan te passen kunnen we de klaring door het lichaam verminderen en/of de effectiviteit van de antistoffen verbeteren. Testen in het laboratorium hebben dat bevestigd. Echter omdat de effectiviteit van behandeling met antistoffen bij kanker van verschillende factoren afhangt, zoals het bereiken van de kankercellen en het aantrekken van verschillende immuuncellen, die niet in het lab te testen zijn, willen we graag in muismodellen voor kanker de effecten van de aangepaste antistoffen verder onderzoeken. Naast het testen van de aangepaste antistoffen willen we ook onderzoeken of IgA antistoffen in een vergevorderd stadium van kanker in staat zijn om de ziekte te remmen. Daarom willen we testen of starten met de behandeling op dag 7 in plaats van dag 0 ook effectief is.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het testen van de effecten van aangepaste IgA antistoffen in muismodellen voor kanker. Daarnaast willen we onderzoeken of IgA antistoffen ook effectief zijn in een vergevorderd stadium van de ziekte. De hypothese is dat de aangepaste

IgA antistoffen effectiever zijn en dat behandeling op een later tijdstip nog steeds effectief is maar minder dan bij de start van het model.

Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studies worden twee modellen gebruikt. In het eerste model worden twee verschillende kankercellen, één met de tumortargets en één zonder de targets, op verschillende manieren gelabeld, gemixt en vervolgens in de buikholte van de muis ingespoten. Dezelfde dag worden de muizen met verschillende antistoffen behandeld (injectie in buikholte). Een dag later worden de muizen gedood en wordt het aantal kankercellen in de buikholte bepaald. In het tweede model worden de kankercellen intraveneus ingespoten in de muis. De kankercellen zijn gelabeld waardoor we de groei van de cellen in levende muizen kunnen volgen. Op dezelfde dag worden de muizen behandeld met verschillende antistoffen. De groei van de kankercellen wordt gedurende drie weken gevolgd. Na drie weken worden de dieren gedood en wordt het aantal kankercellen in de longen geteld. Voor de effectiviteit van antistoftherapie is het belangrijk dat de antistoffen de kankercellen bereiken en dat de juiste immuuncellen aanwezig zijn/aangetrokken worden. Dit kan alleen getest worden in proefdieren. Het gebruik van proefdieren is derhalve noodzakelijk.

Titel studie: CAVB 24/7: ICD algoritme voor het voorkomen van ritmestoornissen

DEC nummer: 2014.II.06.048

Monitoren en het voorkomen van ritmestoornissen via een pacemaker

Achtergrond: Patiënten die een verhoogd risico hebben op levensbedreigende hartritmestoornissen krijgen tegenwoordig vaak een implanteerbare cardioverter defibrillator (ICD). Deze kunnen in het geval van een levensbedreigende ritmestoot ingrijpen door een shock af te geven. We willen met dit huidige onderzoek de mogelijkheid onderzoeken om de instabiliteit van het hart voorafgaande aan een ritmestoot te meten en daarop in te spelen. Op deze manier willen we de ritmestoot voorkomen. Zo hoeft er geen shock afgegeven te worden, wat normaal gesproken door de patiënten als zeer vervelend ervaren wordt en bovendien gaat de batterij van het apparaatje (de ICD) ook langer mee op deze manier.

Doel/hypothese: Het zodanig verbeteren van de ICD's dat ze de hartritmestoot voor zijn, zodat er niet of minder hoeft te worden gedefibrilleerd.

Globale aanpak vraagstelling: We zullen vier experimenten in honden uitvoeren. In het eerste experiment zal de hond de ICD krijgen en zal tevens het natuurlijke geleidingssysteem onderbroken worden zodat het hartritme trager zal gaan waardoor het hart zich zal aanpassen en gevoeliger zal worden voor ritmestoornissen. In het tweede experiment zal er getest worden of de hond gevoelig is voor ritmestoornissen middels het toedienen van een medicament onder anesthesie. Het 3^e experiment zal een wakker experiment zijn waar ook

een middel toegediend zal worden dat ritmestoornissen zal uitlokken. De ICD kan wanneer nodig ingrijpen. In het laatste experiment zullen we het tweede experiment herhalen, maar dan proberen in te grijpen om zo de ritmestoornissen te voorkomen. Aan het einde van dit experiment zal de hond geëuthanaseerd worden. Het hart (en eventueel andere organen) zullen geïsoleerd worden zodat de cellen voor verder onderzoek gebruikt kunnen worden. Om onze onderzoeksvraag te beantwoorden hebben we honden nodig omdat we een intact dier nodig hebben om met alle invloeden op het hartritme rekening te kunnen houden en om alle metingen met de ICD te kunnen doen.

Titel studie: Onderzoek naar CAV bij Brahma's bij LHD

DEC nummer: 2014.II.06.049

Onderzoek naar CAV bij Brahma's bij LHD

Achtergrond: Een ziektekundig probleem bij enkele uitgekomen kuikens deed zich voor. De verschijnselen wezen sterk op de gevolgen van infectie met een pluimvee virus, het Chicken Anemia Virus, afkomstig van de moederdieren. Er is behoefte aan het vaststellen of werkelijk CAV betrokken is. Dat is omdat de tijd waarin het virus mogelijk werd uitgescheiden door de moederdieren veel langer is dan is beschreven in de literatuur, en omdat aanwezigheid van deze infectieziekte gevolgen kan hebben voor de inzetbaarheid van de in deze stallen gehouden kippen.

Doel/hypothese: Het onderzoek moet twee vragen beantwoorden: 1) Is in deze casus het virus van CAV het

oorzakelijk agens? 2) Als CAV het oorzakelijk agens is, is dan sprake van uitscheiding en transmissie voor een periode van meer dan twee maanden?

Globale aanpak vraagstelling: Eieren van de betreffende moederdieren worden uitgebroed en na enkele weken worden de kuikens gedood en worden met verschillende weefselmonsters onderzoeken verricht voor wat betreft de mogelijke aanwezigheid van het CAV en worden de weefsels lichtmicroscopisch onderzocht.

Vergadering 2 juli 2014

Titel studie: Isolatie van bloed en organen t.b.v. primaire cel isolaties en primaire cel kweken

DEC nummer: 2014.II.07.050

Isolatie van bloed en organen uit muizen ten behoeve van gebruik in geavanceerde in vitro testsystemen en vermindering van proefdiergebruik

Achtergrond: Hart en vaatziekten zijn nog steeds een van de belangrijkste doodsoorzaken in de westerse samenleving. Het kapot scheuren van aderverkalkingsplekken is de meest voorkomende oorzaak van een hartinfarct of beroerte. De huidige behandeling van hart en vaatziekten geeft helaas nog geen genezing van de ziekte. Met de toenemende vergrijzing van de samenleving en daarvoor een groeiend aantal hart en vaatziekten patiënten is het van groot belang dat er gezocht wordt naar efficiënte therapieën. Naast het feit dat de vorming van aderverkalking gepaard gaat met verhoogde cholesterol waarden in het bloed, treedt er ook een chronische ontsteking op in de bloedvatwand. Bij de ontwikkeling van nieuwe therapieën gaat veel aandacht uit naar onderdrukking van ontsteking en verbeterd herstel van de hartspeer schade.

Doel/hypothese: Het doel van de huidige studie is om met het gebruik van dierlijk materiaal onze (voor)kennis van hart en vaatziekten verbeteren met als gevolg dege-lijik en weloverwogen vervolgonderzoek in proefdieren

Globale aanpak vraagstelling: Bij de zoektocht naar een verbeterde therapie voor het ontstaan van harten vaatziekten richten wij onze aandacht het inperken van ontstekingsreacties en verbeterd herstel van de hartspier na een hartinfarct. Voordat men over kan gaan tot het toepassen van een therapie in dieren (of mensen) dient er veel voorwerk verricht te worden. Dit vooronderzoek wordt zoveel mogelijk uitgevoerd in geavanceerde test-systemen in een kweekschachtje. Door de complexiteit van het ziektebeeld wordt er bij voorkeur gewerkt met organen en cellen welke direct uit het dier geïsoleerd worden. Voor isolatie van deze organen of cellen zullen we zoveel mogelijk, gebruik maken van surplusdieren (welke overblijven uit een ander experiment of uit fok). Het gebruik van proefdieren zal altijd tot een minimum beperkt worden. We onderscheiden 2 typen isolaties, welke te allen tijde terminaal zijn en met elkaar gecombineerd kunnen worden: 1. Bloed isolatie zal plaatsvinden onder algehele verdoving waarna het bloed afgenomen kan worden. Vervolgens zal het dier (muis) gedood worden. 2. Isolatie van 1 of meerdere organen zal plaatsvinden nadat het dier gedood is. De vorming van hart- en vaatziekten is een zeer complex proces waarbij vele ontstekingscellen en cellen van het hart of de vaatwand zelf bij betrokken zijn. Door deze complexiteit is het onmogelijk deze situatie volledig na te bootsen in een kweekschachtje, waar mogelijk wordt wel gebruik gemaakt van geavanceerde in vitro systemen met behulp cellen of organen afkomstig uit de muis. Het gebruik van proefdieren is dientengevolge noodzakelijk.

Titel studie: Cellulaire electrofysiologie van de hond met een normaal sinus ritme

DEC nummer: 2014.II.07.052

Cellulaire electrofysiologie van de hond met een normaal sinus ritme

Achtergrond: Hartritmestoornissen ontstaan als gevolg van een abnormale elektrische activiteit van het hart. Een abnormale prikkelvorming, abnormale prikkelgeleiding, en 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 (d.w.z. in losse hartspiercellen) van hartritmestoornissen in de hond te onderzoeken. Ons model, de hond met een chronisch hartblok wat de normale communicatie tussen de boezems en de kamers verhindert (cAVB hond) heeft al bewezen dat het een goed model is om het mechanisme van TdP, een gevaarlijke hartritmestoonis, 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 hartspier cellen uit normale honden bestuderen en deze te vergelijken met cellen uit harten van cAVB honden zodat we meer inzichten krijgen in het mechanisme van hartritmestoornissen. De hond is een geschikt dier omdat het elektrisch systeem van het hondenhart goed overeenkomt met dat van een mens. Verder is dit hondenhart goed gekarakteriseerd binnen onze groep. Het dier zal onder narcose worden gebracht. Er zullen bloed monsters worden genomen, een hart filmpje (ECG) worden gemaakt en de 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 aan geïsoleerde losse hartspiercellen. Ook worden na afloop nog grotere hartweefsel monsters genomen voor genetische doeleinden.

Titel studie: Vervolgonderzoek naar de rol van LAIR-1 in de ontwikkeling van COPD, gebruikmakend van het rook-model in de muis

DEC nummer: 2014.II.07.053

Onderzoek naar de rol van LAIR-1 (een remmende ontstekingsreceptor) in de ontwikkeling van de longziekte COPD, gebruikmakend van het rook-model in de muis

Achtergrond: De longziekte COPD wordt voornamelijk veroorzaakt door roken, maar luchtverontreiniging in de westerse wereld en het stoken van biomassa in ontwik-

kelingslanden spelen ook een zeer belangrijke rol. Het onderzoek met proefdieren naar ziekten die mede veroorzaakt wordt door de leefstijl van mensen staan onder discussie, waaronder ook hart en vaatziekten, diabetes en psychische aandoeningen vallen door bijvoorbeeld slechte eet gewoontes, weinig of niet sporten en te weinig ontspanning. De World Health Organization (WHO) pleit echter wel voor onderzoek naar deze leefstijl gerelateerde ziekten omdat het wereldwijd een zeer serieus probleem is en het nog groter gaat worden. De longziekte COPD is een aandoening die wordt gekenmerkt door luchtwegontstekingen en onomkeerbare luchtwegobstructies. Daarbij wordt een sterke toename van ontstekingscellen waargenomen. Ook worden de wandjes in de longen afgebroken en komen er longstructuren vrij. Naast genetische aanleg zijn ook omgevingsfactoren belangrijke oorzaak voor het ontstaan van COPD en het is bekend dat in westerse landen (sigaretten)rook de bekendste risicofactor is voor de ontwikkeling van deze longaandoening. Tevens dragen bepaalde vormen van luchtverontreiniging enorm bij aan het vele voorkomen van COPD. Behalve dat het stoppen van roken aangehouden wordt, zijn er op dit moment alleen behandelingen bekend die de symptomen van deze aandoening verlichten. Achterliggende mechanismen die betrokken zijn bij het ontstaan en de ontwikkeling zijn vooralsnog vrij onbekend, maar voor effectieve medicijnontwikkeling is het nodig om ze te bestuderen. Wel bekend is dat bepaalde bestanddelen van sigarettenrook het longweefsel beschadigen en ontstekingscellen aantrekken die de longen verder aantasten. Algemeen wordt aangenomen dat de ontwikkeling van COPD niet alleen veroorzaakt wordt

door een rechtstreeks effect van (rook)bestanddelen op cellen, maar eveneens doordat er sprake is van onge-remde ontstekingsresponsen. Hierbij spelen remmende receptoren een rol; zij kunnen de immuunrespons van de luchtwegen bedwingen. Wanneer deze receptoren afwezig zijn, ontstaan er dus ongeremde reacties. Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor-1 (LAIR-1) is een receptor die remmend werkt op ontstekingscellen. LAIR-1 bindt ook aan bepaalde longstructuren die overvloedig aanwezig zijn in de luchtwegen. Er bestaan tot nu toe geen voorgaande experimenten waarbij LAIR-1 geblokkeerd wordt in muizen. Aangezien LAIR-1 in staat is de immuunreacties te bedwingen, willen we in deze studie verder onderzoeken (als vervolg op een eerder uitgevoerd experiment) of het blokkeren van LAIR-1 de ernst van luchtwegparameters (waaronder luchtwegontstekingen en de ontwikkeling van longemfyseem (de rek is uit de longen)) in de loop van de tijd zal versterken. Dit kan worden onderzocht door LAIR-1 knock-out muizen (die missen dus de LAIR-1 receptor) gedurende kortere of langere tijd bloot te stellen aan rook en COPD-parameters te vergelijken met muizen die een genetische controle achtergrond hebben (C57BL/6J).

Doel/hypothese: Hypothese: Wanneer de receptor LAIR-1 afwezig is, zal er minder of geen remming van de ontstekingsrespons zijn. Dit zal zich in de loop van de tijd toenemend uiten in een verandering van longfunctie, toename van ontstekingscellen in het bloed en de longen, ontwikkeling van hartvergroting (rechter kamer) en longemfyseem (rek uit de longen). Het doel is (herhaald en intensiever) onderzoeken of LAIR-1 een regelende

rol speelt bij het ontstaan van luchtwegontstekingen en de ontwikkeling van longemfyseem door toedoen van sigaretten rook.

Globale aanpak vraagstelling: Mannelijke en/of vrouwelijke C57BL/6J muizen (=wild type, controle) en LAIR-1 -/- muizen worden in deel 1 gedurende 5 dagen of 10 dagen (2 x per dag) en in deel 2 gedurende 5 dagen of 6 weken (1 x per dag) aan rook of lucht blootgesteld. Daarna zullen COPD gerelateerde parameters tussen beide muizenstammen vergeleken worden. 18 Uur na de laatste rookblootstelling wordt de longfunctie van vrij bewegende dieren gemeten. Aansluitend wordt luchtwegfunctie en bloeddruk in de longvaten gemeten in muizen die onder anesthesie gebracht zijn. Vervolgens worden de dieren gedood. Gedurende deze studies zal het lichaamsgewicht minimaal 3 keer per week worden genoteerd. Nadat de muizen zijn gedood, worden de longen gespoeld, de aantallen cellen in de longen geteld, de hoeveelheden ontstekingscellen bepaald en vrijgekomen stoffen uit de ontstekingscellen gemeten. Het bloed wordt geïsoleerd om cellen in te tellen, aantallen ontstekingscellen te bepalen en om afgegeven stoffen uit ontstekingscellen te meten. Verder worden alle relevante weefsels/organen geïsoleerd. Aangezien ontstekingen en de productie van stoffen uit ontstekingscellen resultaat zijn van veel processen in het lichaam, waarbij cellen, weefsels en systemen betrokken zijn, kan de ontwikkeling van de longziekte COPD niet anders bestudeerd worden dan in het intacte dier. Er is tot nu toe geen ander model bekend dat het meten in een levend lichaam kan vervangen met behoud van dezelfde kennis die hieruit verkregen kan worden.

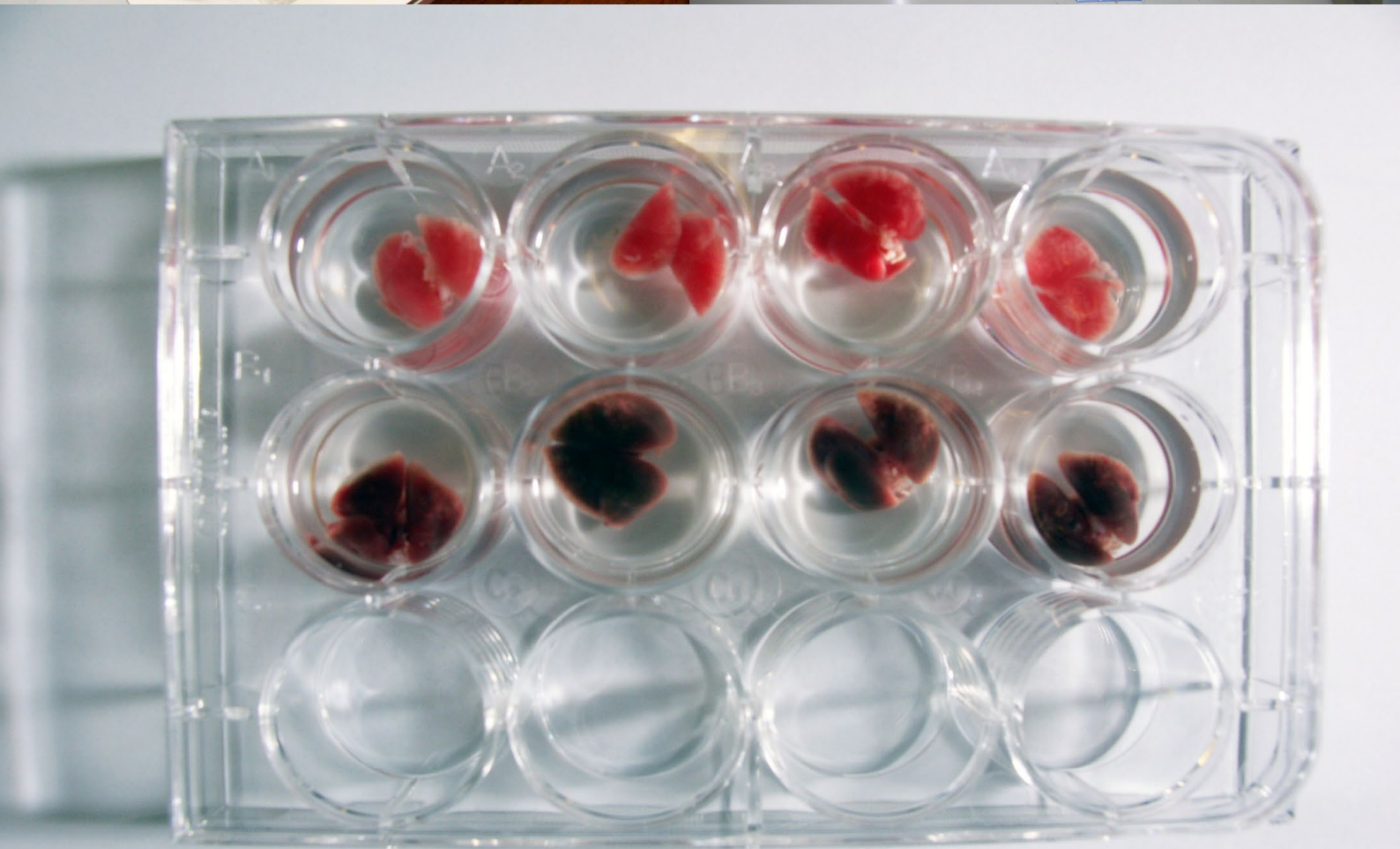


Foto links-boven: Dit is een voorbeeld van een opstelling waarin proefdieren blootgesteld kunnen worden aan sigarettenrook om onderzoek te verrichten naar sigarettenrook relateerde aandoeningen aan luchtwegen en hart/bloedvaten.

Hoe vreemd het ook klinkt, hiervoor worden speciale "Onderzoekssigaretten" gebruikt. Dit is nodig om de bestanddelen in de tabak constant te houden. De sigaretten worden onder gestandaardiseerde omstandigheden gemaakt door de Universiteit van Kentucky (USA). De sigarettenrook wordt via de pomp (onderste) in de blootstellingskamer geleid. De rook wordt vermengd met lucht (boven pomp) om dezelfde concentratie rook te bereiken als in de luchtwegen van mensen.

Foto rechts-boven: Dit is een opstelling waarin de functie van hart en longen gemeten kan worden bij proefdieren onder narcose. Voor onderzoek naar COPD zijn de functie van hart en longen even belangrijk omdat 50% van de patiënten komt te overlijden aan hartfalen en 50% aan ademnood. Bij muizen worden dezelfde longfuncties bepaald als bij mensen. Dit is de weerstand die de lucht ondervindt om in- en uitgeademd te worden en de compliantie. Dit is een maat voor de rekbaarheid van de longen die verminderd is bij COPD patiënten. De druk in de slagader die naar de longen loopt wordt gemeten in muizen omdat het hart meer moeite moet doen om het bloed in de longen te pompen (druk neemt toe) in patiënten met COPD. Bovendien wordt de hoeveelheid zuurstof (saturatie) gemeten die in het bloed zit, deze is verlaagd bij patiënten met COPD door een verminderde gasuitwisseling en transport.

Foto onder: Na het meten van de hart- en long-functie worden de belangrijke organen uit de proefdieren gehaald voor verder onderzoek. Dit is een foto van vier longen van muizen die blootgesteld hebben gestaan aan lucht en daaronder vier longen van muizen die blootgesteld hebben gestaan aan sigarettenrook. Duidelijk is te zien dat de teer van de sigaretten de longen verkleurd. Eenzelfde beeld is ook te zien bij de longen van mensen die roken. Net zoals bij mensen, vertonen de muizen geen uiterlijke verschijnselen van het roken. De belangrijkste verschijnselen bij mensen is dat de longblaasjes in de loop der jaren kapot gaan en verdwijnen. Hierdoor neemt niet alleen het oppervlakte af voor de uitwisseling van zuurstof maar verdwijnen ook de bloedvaten die de zuurstof moeten transporteren. Door het verdwijnen van de bloedvaten in de longen moet het hart harder werken omdat het hart dezelfde hoeveelheid bloed nu door minder bloedvaten heen moet persen. In de muizen meten wij dan ook de meest belangrijke pathologische parameters voor COPD en dat is de mate van schade aan de longblaasjes en het vergroeiën (lees vergroten) van de hartspier die het bloed naar de longen pompt.

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

DEC nummer: 2014.II.07.054

De rol van het autonome zenuwstelsel in de activiteit van ontstekingscellen bij atherosclerose

Achtergrond: Atherosclerose ofwel 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 atherosclerose. Belangrijk hierin zijn zowel de rollen van het afweersysteem en het zenuwstelsel die beide aangrijpingspunten bieden voor behandeling of het vinden van methoden ter preventie.

Doel/hypothese: Zenuwuiteinden scheiden in de wand van bloedvaten stoffen 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 een dergelijke specifieke zenuw (de nervus vagus) wordt gestimuleerd?

Globale aanpak vraagstelling: Door middel van een vetrijk dieet wordt vooraf de algemene ontstekingsactiviteit gestimuleerd (in muizen) waarbij er in de vaatwand ontstekingscellen worden aangetrokken. De activiteit van die cellen wordt voor een deel geregeld via zenuwen in de vaatwand waarbij bepaalde zenuwen (parasymptatische), waaronder de nervus vagus, een remmende invloed uitoefenen. Door het al dan niet stimuleren van de nervus vagus verwachten we een arteriële vaatwand met meer of minder geactiveerde ontstekingscellen. Met verschillende kleureringen en bepalingen verwachten we antwoorden te vinden op de hierboven gestelde vragen.

Titel studie: Lokale innate immuun activatie in spier na vaccinatie

DEC nummer: 2014.II.07.055

Primaire reactie van immuun cellen op vaccinatie in de spier

Achtergrond: Vaccins en hulpstoffen in vaccins zorgen voor bescherming tegen veel infectieziekten. Helaas ontstaan er in zeldzame gevallen (ernstige) bijwerkingen na vaccinatie. Waarom dit gebeurt is in veel gevallen onduidelijk. Cellen van het immuun systeem reageren

op het toegediende vaccin, wat nodig is voor een goede bescherming tegen de infectie waar het vaccin voor gebruikt wordt. Echter, mogelijk leidt het vaccin soms ook tot ongewenste (over)activatie van cellen van het immuunsysteem en dat kan leiden tot meer of minder ernstige bijwerkingen (bijvoorbeeld auto-immuunrespons). Er is nog niet zoveel bekend over wat het vaccin doet met activatie van immuun cellen op de plek van injectie (de spier). Daarom wordt met dit onderzoek bestudeerd of vaccins inderdaad kunnen leiden tot ongewenste (over)activatie van de cellen in de spier. In de toekomst kunnen nieuwe vaccins daarop getest worden, om veilig gebruik te garanderen.

Doel/hypothese: We willen graag meer weten over de eerste reactie van het immuunsysteem op het vaccin/ de vaccin-hulpstoffen op de plek van injectie (spier). We hopen door beter te weten hoe het vaccin werkt in het lichaam, betere en vooral ook veiligere vaccins te kunnen ontwikkelen en in de toekomst en ernstige bijwerkingen te kunnen voorkomen. Uiteindelijk leidt dit hopelijk naar een tool om te onderzoeken of nieuwe, humane vaccins in ontwikkeling kunnen leiden tot de eerder genoemde (over)activatie en zo te voorkomen dat deze vaccins in de mens terecht komen.

Globale aanpak vraagstelling: Om zo goed mogelijk de menselijke situatie na te bootsen waarbij alle cellen van het immuunsysteem samenwerken, zullen muizen eenmalig worden ingeënt met humane vaccins of vaccinbestanddelen. Daarna wordt de mate van activatie van de immuun cellen op de plek van injectie (spier) bepaald en onderling vergeleken.

Titel studie: IL4-10 synerkine to inhibit immunopathology in proteoglycan-induced arthritis (PGIA)

DEC nummer: 2014.II.07.056

Voorkomen van immunopathologie in reumatoïde artritis door IL4-10 synerkine

Achtergrond: Reumatoïde artritis (RA) is een chronische invaliderende auto-immuun ziekte waarbij vooral de gewrichten maar ook organen aangedaan kunnen zijn. Ontstekingen in de gewrichten van RA patiënten zorgen voor schade aan bot en kraakbeen. Deze problemen zijn vaak ernstig en leiden tot pijn, bewegingsbeperking, moeheid maar ook vroegtijdig overlijden door bijvoorbeeld een verhoogd risico op vaatlijden. De oorzaak van RA is tot op heden niet exact bekend, hoewel er veel bewijs is dat genetische factoren en omgeving een belangrijke rol spelen in de ontsparing van het afweersysteem dat zich tegen lichaamseigen cellen en weefsels richt. Middelen om dit ontstekingsproces te voorkomen zijn voorhanden, maar vaak niet voldoende om schade aan de gewrichten volledig te voorkomen en het aanhouden of terugkomen van de ontstekingen tegen te gaan. Recent hebben we een zeer potent ontstekingsremmend medicijn ontwikkeld dat de eigenschappen van 2 natuurlijk voorkomende ontstekingsremmende eiwitten -IL4 en IL10- combineert in 1 fusie eiwit. Dit fusie eiwit, genaamd IL4-10 synerkine kan in kweken met menselijke cellen en in muizen modellen voor pijn zeer goed ontsteking en pijn remmen. Het doel van deze studie is te onderzoeken of behandeling met IL4-10 synerkine in een diemodel voor RA de activatie van immuun cellen kan worden voorkomen

en of dit leidt tot preventie van gewrichtsontsteking en gewrichtsschade.

Doel/hypothese: Het bestuderen van de capaciteit van IL4-10 synerkine om gewrichtsontsteking en gewrichtsschade te remmen in het (proteoglycaan geïnduceerde) muizenmodel voor reumatoïde artritis. Daarbij zal dit medicijn worden vergeleken met de combinatie van IL4 en IL10 om de meerwaarde te bestuderen.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we het effect van IL4-10 synerkine op de ontwikkeling van artritis en op reeds bestaande artritis bestuderen. Om dit te bestuderen zullen we op twee verschillende momenten starten met de behandeling. In het eerste experiment behandelen we die dieren preventief (voorafgaand aan ziekteverschijnselen). In het tweede experiment zullen de dieren therapeutisch behandeld worden (na het ontstaan van ziekte). Als behandeling krijgen de dieren injecties met een controle oplossing (ter controle van ziekte ontwikkeling), een combinatie van IL4 plus IL10 (ter controle van de werking van het fusie eiwit IL4-10 synerkine), of IL4-10 synerkine. In totaal zullen er 8 injecties gegeven worden. Om artritis ontwikkeling op te wekken worden 2 injecties met PG/DDA toegediend. Er zal 3x per week gewrichtszwelling/ontsteking worden bepaald om die ziekte ontwikkeling te monitoren. Halverwege de behandeling wordt er bloed afgenomen om bepalingen te doen op aanwezigheid van ontsteking bevorderende en remmende eiwitten. Aan het eind van het experiment worden van de muizen bloed, milt, thymus, lymfeklieren en gewrichten geïsoleerd voor het testen op de aanwezigheid van bepaalde celtypen en eiwitten. Vanwege de complexiteit van de afweerrespons en daarmee gepaarde

ziekte ontwikkeling is het niet mogelijk dit te vervangen door bijvoorbeeld computer modellen. Waar mogelijk worden verdere in vitro experimenten uitgevoerd met materiaal afkomstig uit deze dieren, waarmee we nog beter de resultaten kunnen interpreteren. Dit is gebaseerd op experimenten beschreven in de literatuur en ervaring binnen onze groep met diermodellen en de te analyseren parameters.

Vergadering 20 augustus 2014

Titel studie: Biologische bestrijding van leverbot via de tussengastheer met behulp van loopeenden

DEC nummer: 2014.II.08.057

Biologische bestrijding van de leverbot met behulp van loopeenden

Achtergrond: Bij herkauwers komen veelvuldig infecties met de trematode *Fasciola hepatica* (leverbot) voor. Vooral schapen hebben daar veel last van omdat deze diersoort nauwelijks immuniteit tegen de parasiet ontwikkelt, waardoor de parasiet in staat is veel schade te veroorzaken aan de lever. Niet zelden treedt daarbij sterfte op. Er zijn een beperkt aantal wormmiddelen op de markt tegen leverbot, waarvan slechts 1 werkzaam is tegen alle larvale zowel als volwassen stadia van de parasiet. Dit middel werd en wordt dan ook veelvuldig en wereldwijd ingezet met als gevolg dat de parasiet hiertegen anthelminthicum resistentie heeft ontwikkeld. Dit is een sterk toenemend probleem ook in Nederland. Andere middelen werken alleen tegen de volwassen stadia. Dat is onvoldoende omdat het lang duurt voordat de parasiet in het schaap volwassen wordt (10-12 weken). En juist gedurende deze periode veroorzaken de jonge stadia veel schade, zowel aan het leverweefsel als aan de galgangen. Sterfte wordt ook meestal gezien gedurende deze periode doordat massale infecties vroegtijdig de gehele lever kapot maken. Later zien we buikpijn, bloedarmoede, oedeem en geelzucht optreden, evenals grote productieverliezen (groei, melk en

fertiliteit). Er is dus noodzaak om tot alternatieven in de bestrijding te komen, aangezien er op afzienbare termijn geen nieuwe anthelminthica beschikbare komen en een vaccin ook niet voor de hand ligt. De levenscyclus van de leverbot omvat een tussengastheer, een poelslakje *Galba truncatula*. Wegnemen van deze tussengastheer betekent een effectief doorbreken van de levenscyclus. Een van de mogelijkheden om dit te bereiken is het inzetten van loopeenden (*Anas platyrhynchos domesticus*). Deze loopeenden (ook wel Indische loopeenden genoemd) eten weekdieren en allerlei kreeftachtigen en worden in Zuidoost Azië wel ingezet ter bestrijding van slakkenplagen in rijstvelden. Ook in Europa worden loopeenden op zeer kleine schaal ingezet in de slakkenbestrijding in (moes)tuinen. In 2013 hebben wij in een pilot onderzocht of loopeenden ook de tussengastheer van de leverbot weg zou kunnen eten. Het zijn kleine slakjes van 1-7 mm groot. Gebleken is dat de loopeenden zonder onderscheid slakjes eten waaronder de zogenaamde leverbotslakjes. We willen nu op deze resultaten voortbouwen en een studie uitvoeren waarbij we eveneens kijken naar het uiteindelijke effect hiervan op de werkelijke leverbotlast in lammeren die worden geweid op percelen waar eerst met behulp van loopeenden de populatie tussengastheren is teruggedrongen.

Doel/hypothese: Inzet van loopeenden gedurende de zomer leidt tot een zodanige reductie in het aantal tussengastheren van leverbot, dat daardoor leverbotinfectie in het najaar bij lammeren zo goed als voorkomen kan worden.

Globale aanpak vraagstelling: Gedurende de zomer ontwikkelt de tussengastheer populatie zich, evenals

dat daarin de tussenstadia van de leverbot ontwikkelen. Vanaf ongeveer augustus tot in het najaar komen die stadia vrij op het weiland en bouwt er een weidebesmetting op met infectieuze stadia van de leverbot. Om dit te voorkomen, worden loopeenden gebruikt om de populatie slakjes laag te houden. Dit gebeurt op twee percelen, waarbij twee vergelijkbare andere percelen als controle worden aangehouden. Vanaf medio/eind augustus worden dan op elk van de 4 percelen 10 lammeren geweid tot in het najaar. Dan moet blijken of de loopeenden de populatie slakjes voldoende laag hebben gehouden zodat er geen leverbotinfectie ontstaat in de lammeren. Gebruik van proefdieren is hier noodzakelijk omdat niet anders is vast te stellen dat de opzet inderdaad leidt tot minder of zelfs geen leverbotinfectie in de natuurlijke gastheer. Vanzelfsprekend wordt gemeten hoeveel slakjes er op de percelen in de tijd voorkomen en wordt vervolgd hoeveel infectieuze stadia worden afgescheiden op het weiland, maar daarmee is nog niet gezegd dat een verlaging hiervan ook daadwerkelijk leidt tot een dusdanige verlaging van het aantal parasieten in de schapen zelf zodat gezondheidsklachten niet meer optreden. Daarom is het noodzakelijk om het hele proces tot en met de uiteindelijke infectie in schapen te volgen om het werkelijke effect van inzet van loopeenden te kunnen evalueren.

Titel studie: Onderzoek naar het effect van prednisolone fosfaat-liposoom therapie in een model voor inflammatoire darmziekten (IBD) in de muis

DEC nummer: 2014.II.08.058

Onderzoek naar het effect van prednisolone fosfaat-liposoom therapie in een model voor inflammatoire darmziekten in de muis

Achtergrond: Chronisch inflammatoire darmziekten, 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 chronisch inflammatoire darmziekten ontstaan, maar ontstekingscellen spelen een grote rol. Deze ontstekingscellen zorgen er voor dat er vrijzetting van o.a. ontstekingsmediatoren optreedt. Prednisolon (PLP) is de synthetische variant van de bijnierschors hormonen, ook wel corticosteroïden genoemd. Prednisolon wordt toegepast bij zeer veel aandoeningen, waarbij ontstekingsverschijnselen een rol spelen zoals chronisch inflammatoire darmziekten. Het werkt als ontstekingsremmer (verminderde aanmaak van ontstekingsmediatoren) en immuunsuppressor (door de aanmaak van mediators die het immuunsysteem remmen). Bij langdurige blootstelling met een hoge dosering prednisolon, kan dit tot bijwerkingen leiden. Deze bijwerkingen zijn veelvuldig gepubliceerd in relatie met de behandeling bij chronisch inflammatoire darmziekten. In dit onderzoeksproject willen we de toediening van prednisolon veranderen waardoor de dosis verlaagd kan worden en bijwerking aanzienlijk minder zullen zijn. Door prednisolon te verpakken in liposomen, wordt het

geneesmiddel efficiënt afgeleverd op de plaats van ontsteking. De liposomen gevuld met prednisolon zullen uit de bloedbaan door macrofagen (belangrijke ontstekingscellen bij chronisch inflammatoire darmziekten) opgenomen worden op de plaats van ontsteking. Bovendien zal de werkzame stof door de macrofagen over een langere tijd vrijgegeven worden.

Doel/hypothese: We willen in deze studie de effecten van prednisolon in liposomen op de ontstekingen, mediators en klinische activiteit in een muismodel dat kenmerken vertoont van chronisch inflammatoire darmziekten. De pathofysiologische afwijkingen die in dit proefdiermodel worden waargenomen komen overeen met de klachten in een mens met Colitis Ulcerosa: diarree, bloed in de ontlasting en infiltratie van ontstekingscellen. Dit model zou de mogelijkheid bieden om de influx van ontstekingscellen, de productie van mediators evenals weefsel schade en klinische activiteit te remmen door middel van behandeling met prednisolon-liposomen om zo de rol daarvan op het ontstaan van chronisch inflammatoire darmziekten beter te kunnen onderzoeken in een diermodel. De hypothese is dat we met behulp van deze toedieningsvorm de darmontsteking efficiënter en met een lagere dosis kunnen remmen.

Globale aanpak vraagstelling: Chronisch inflammatoire darmziekten brengen 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. Corticosteroïden worden vaak toegepast en van deze geneesmiddelen is bekend dat bij langdurig gebruik vervelende

bijwerkingen optreden, zoals maag-darmklachten, hoge bloeddruk, botontkalking (osteoporose), verhoogde gevoeligheid voor infectie, ophoping van vetweefsel in het gelaat en boven op de rug en suikerziekte. 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. Op dag 4 tijdens de toediening van drinkwater met DSS worden de dieren al dan niet behandeld met een eenmalige injectie met liposomen gevuld met verschillende doseringen prednisolon. We noteren iedere dag het gewicht en de hardheid en bloederigheid van de ontlasting. Na 6 dagen worden de dieren gedood en isoleren we bloed, de darm en verder andere relevante weefsels en organen. We willen in deze studie de aantallen dieren zo klein 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 prednisolon-liposomen behandelde groepen verminderd worden. Deze effecten bij elkaar, opgewogen tegen het belang van noodzakelijke medicatie voor de mens met chronisch inflammatoire darmziekten 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: Role of CITED4 signaling reverse left ventricular remodeling after pressure overload

DEC nummer: 2014.II.08.061

De rol van CITED4 eiwit in de aanmaak van hartspiercellen gedurende hartfalen

Achtergrond: Data uit onze groep heeft uitgewezen dat het eiwit CITED4 hoogst waarschijnlijk mede verantwoordelijk is voor de groei van hartspiercellen in het hart. Door het eiwit CITED4 specifiek in hartspiercellen van een muis te verwijderen en het hart aan verhoogd werkdruk te onderwerpen, wordt hartfalen nagebootst in deze muislijn samen met hun wildtype groepsgenoten. 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 CITED4 in hartspiercellen onder verhoogde werkdruk zal leiden tot remming van hartspiercel, groei en functie verlies.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek gebruiken we muizen waarin we hartfalen nabootsen door de werkdruk op het hart te verhogen. Hierbij gebruiken we muizen lijnen die normaal en verlaagd expressie hebben van het eiwit CITED4 in de hartspiercel. Helaas is er vooralsnog geen goed alternatief, omdat cellen in celkweek niet de situatie kunnen nabootsen die be-

trouwbare 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 daarom niet reproduceerbaar in cellijnen. Hierdoor is het gebruik maken van dieren en onmisbare stap voor deze studie. Door echocardiografie wordt de functie van deze harten gemeten en bepaald of lagere activiteit van het eiwit CITED4 in het hart tot minder hartspiercel groei en functie verlies kan leiden.

Titel studie: Pilot: Bepaling van de nauwkeurigheid van MRI gestuurde injecties in het hart

DEC nummer: 2014.II.08.062

Bepaling van de nauwkeurigheid van MRI gestuurde injecties in het hart

Achtergrond: Hart- en vaatziekten vormen een grote last voor de medische zorg. Bij een acuut hartinfarct lijdt zuurstoftekort (ischemie) van de hartspier door afsluiting van een kransslagvat tot het afsterven van hartspiercellen. Hoewel de behandeling hiervan de laatste tientallen jaren ontzettend is verbeterd, is het voorkomen of terugdraaien van functieverlies van de hartspier nog niet mogelijk. Dit is het gevolg van een vicieuze cirkel van remodelling van het hart met verder verlies van hartspiercellen en uiteindelijk hartfalen tot gevolg. Met de groeiende blootstelling aan risicofactoren zoals roken en overgewicht zal dit ziektebeeld in de toekomst steeds meer voorkomen. De ontwikkeling van alternatieve therapieën om ischemische hartziekten te behandelen is daarom noodzakelijk. Met de ontwikkelingen van de

kennis en technieken op het gebied van de biotechnologie zijn nieuwe behandelmethoden voor ischemische hartziekten ontstaan. Deze nieuwe therapieën maken gebruik van stamcellen en de biologisch actieve stoffen die stamcellen uitscheiden. Deze hebben een beschermende werking op de hartspiercellen en bevorderen biologische processen zoals de aanmaak van nieuwe vaten om de remodelling te beperken. In de meest wenselijke situatie worden de verloren hartspiercellen vervangen door nieuwe. Dit aanzetten tot herstel van het lichaam wordt regeneratieve therapie genoemd en richt zich op het aanzetten van het herstelvermogen van het lichaam na schade. Een van de resterende problemen bij regeneratieve therapie voor het hart is het op de juiste plek injecteren van de therapeutische middelen. Bij injecties in de hartwand van binnenuit wordt een katheter in het hart gebracht. Vanwege de minimaal invasieve toegang tot het hart wordt de laatste techniek het meest toegepast. Voor het succes van regeneratieve therapie is het erg belangrijk dat er voldoende cellen rondom het infarct gebied aanwezig zijn. Het meest gebruikte injectiesysteem hiervoor is het NOGA®XP systeem. Met dit systeem kunnen door middel van een katheter lokale metingen worden gedaan van de elektrische geleiding en van de lokale vervorming van het hart (elektromechanische metingen). Omdat in het infarct gebied de elektrische en mechanische activiteit is verminderd, kan deze informatie worden gebruikt om injectielocaties te bepalen. Omdat deze techniek voorafgaand aan de injecties veel metingen met speciale katheters vereist, is deze methode duur, tijdrovend, en moeilijk te standaardiseren. De gouden standaard techniek om de grootte en locatie van

het infarct te meten is MRI waarbij gebruik wordt gemaakt van een contrastmiddel om het infarct goed zichtbaar te maken. Door de MRI metingen te gebruiken om het infarct en de randgebieden van het infarct te visualiseren en deze tijdens de injectie procedure te gebruiken om de katheter naar de juiste locatie te sturen, kunnen injecties beter gestandaardiseerd worden waardoor de therapie efficiënter kan worden geoptimaliseerd.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het onderzoeken of met behulp van de gecombineerde weergave van MRI beelden en elektromechanische metingen met het NOGA systeem tijdens beeld gestuurde interventies het randgebied van het infarct nauwkeuriger benaderd kan worden dan bij het gebruikmaken van alleen elektromechanische metingen.

Globale aanpak vraagstelling: Om deze hypothese te toetsen willen wij een studie doen met twee groepen van 6 varkens. In beide groepen krijgen de varkens een infarct door middel van het afsluiten van een kransslagader gedurende 90 minuten. Vier weken na het induceren van het infarct wordt in de NOGA+MRI groep een MRI scan van het hart gemaakt waarop het infarct zichtbaar wordt gemaakt. Hierna ondergaan de dieren in deze groep elektromechanische metingen die worden gecombineerd met de MRI beelden waarop het infarct zichtbaar is. Er worden nu injecties met magnetische deeltjes (SPIO's) in het (MRI) randgebied van het infarct geplaatst, en 3 in de tegenover gelegen gezonde wand. Hierna ondergaan de dieren in deze groep een tweede MRI waarop het infarct en de ijzerinjecties zichtbaar worden gemaakt. Hierna volgt een tweede elektromechanische meting waarbij de nieuwe MRI beelden worden gebruikt om nieuwe

injecties met een kleurstof te doen op de locaties van de ijzeroxides. Hierna worden de varkens geëuthanaseerd en wordt het hart uitgenomen. Om de nauwkeurigheid te bepalen waarmee de injecties in het randgebied kunnen worden gedaan meten we de afstand van de SPIO's tot het infarct randgebied welke als doel van de injecties heeft gediend. De afstand tussen de SPIO locaties en de kleurstof locaties bepaalt de nauwkeurigheid om een specifieke locatie te benaderen. Deze metingen worden uitgevoerd op zowel de data van de tweede MRI scan als de histologie. In de NOGA groep wordt de eerste MRI achterwege gelaten en wordt het infarct randgebied bepaald op basis van alleen de elektromechanische metingen.

Titel studie: Chronisch nierfalen in CD-1 muizen

DEC nummer: 2014.II.08.063

Chronisch nierfalen in CD-1 muizen

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 met chronische nierschade te onderzoeken. Om het therapeutische effect van menselijke cellen te kunnen bestuderen worden naakte muizen gebruikt, dit zijn muizen waarin het immuunsysteem vrijwel niet functioneert en daardoor de 'vreemde' menselijke cellen niet zullen afstoten. Het is echter niet bekend wat het niet functioneren van het immuunsysteem betekend voor de

ontwikkeling van nierschade.

Doel/hypothese: De voorliggende studie beoogt het vergelijken van de ontwikkeling van chronisch nierfalen in normale CD-1 muizen met naakte CD-1 muizen.

Globale aanpak vraagstelling: De ontwikkeling van chronische nierschade is te complex om met bijvoorbeeld in-vitro, met een computersysteem of restmateriaal te bestuderen omdat hier onder andere ook het vaatnetwerk en het hart bij betrokken zijn. Voor het ontwikkelen van nieuwe therapieën voor patiënten met chronische nierschade is het daarom noodzakelijk om proefdieren in te zetten. Bij muizen zal chronisch nierfalen worden geïnduceerd door eerst een nier te verwijderen, gevolgd door het verwijderen van 2/3 van de tegenoverliggende nier een week later. Daarnaast zullen dieren al dan niet een speciaal dieet krijgen. Gedurende de studieperiode 16-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 bloeddruk meting worden uitgevoerd en worden de organen verzameld voor verder onderzoek.

Titel studie: Efficacy and safety of GS-6615, a new drug for treating ventricular arrhythmias

DEC nummer: 2014.II.08.064

Effectiviteit en veiligheid van GS-6615, een nieuw geneesmiddel voor de behandeling van hartritmestoornissen

Achtergrond: Hartritmestoornissen (zowel erfelijke als niet erfelijke vormen) komen vaak voor. Het implanteren van een interne cardioverter-defibrillator (ICD) is de

meest gebruikte behandel methode. Implantatie van een ICD is echter zeer belastend voor de patiënt en het risico op complicaties is niet gering. Ontwikkeling van nieuwe medicamenteuze behandelingen voor hartritmestoornissen (anti-aritmica) is daarom hard nodig. Sinds kort wordt de remming van de zogenaamde late natrium stroom gezien als een veelbelovend mechanisme om hartritmestoornissen te stoppen. Er zijn een aantal geneesmiddelen (flecainide, ranolazine, lidocaïne en amiodarone) op de markt die deze late natrium stroom remmen, maar door hun gebrek aan selectiviteit en specificiteit leidt tot zeer nadelige effecten zoals QT-verlenging (verlenging van de repolarisatie fase van het hart, op het hartfilmpje te zien als een verlenging van het QT interval), vermindering van de elektrische geleiding, en afname van de bloeddruk en contractie kracht van het hart. Echter, bij specifieke remming van de late natrium stroom zullen deze bijwerkingen achterwege blijven. Recentelijk heeft onze afdeling een specifieke late natrium stroom remmer, GS-458967, getest in ons cAVB honden model (honden met een compleet hartblok, waardoor er geen communicatie meer is tussen de boezems en kamers. Dit geeft een verhoogde gevoeligheid voor hartritmestoornissen). Dit preklinische geneesmiddel bleek zeer effectief te zijn tegen hartritmestoornissen, ook bleek het veilig te zijn. Helaas is dit geneesmiddel niet geschikt voor klinisch gebruik. GS-6615 is een geneesmiddel dat sterk gerelateerd is aan GS-458967, maar heeft verbeterde eigenschappen zodat deze geschikt is voor gebruik in de kliniek. GS-6615 moet getest worden op zowel veiligheid als effectiviteit in een geschikt diermodel. Het cAVB hondenmodel is een goed gevalideerd en geschikt diermodel.

In deze honden kan zowel de effectiviteit van nieuwe medicijnen tegen hartritmestoornissen als het eventueel opwekken van Torsades de Pointes getest worden.

Doel/hypothese: 1) Bepalen van de elektrofysiologische effecten (effecten op het hartfilmpje) van GS-6615 bij honden met normaal sinus ritme. 2) Bepalen of GS-6615 Torsade de Pointes hartritmestoornissen kan veroorzaken in het CAVB hond model. 3) Bepalen of GS-6615 effectief is tegen hartritmestoornissen (opgewekt door dofetilide) in het cAVB hondenmodel.

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 (medicijnen om hartritmestoornissen te stoppen) 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 zal gekeken worden naar de elektrofysiologische effecten van GS-6615 in honden met een normaal hartritme. Vervolgens zal er gekeken worden of GS-6615 hartritmestoornissen veroorzaakt in de cAVB hond. Om te bepalen of GS-6615 effectief is tegen hartritmestoornissen zullen er eerst hartritmestoornissen opgewekt worden met dofetilide, vervolgens zal GS 6615 toegediend worden om de hartritmestoornissen te stoppen. Alle procedures zullen

plaatsvinden onder narcose, met een minimale tussenpoos van 2 weken tussen de verschillende experimenten. Tijdens het laatste experiment nadat alle experimentele handelingen zijn verricht zal het dier geëuthanaseerd worden, het hart zal gebruikt worden voor weefsel en cellulair analyse/onderzoek.

Titel studie: Optimalisatie Hsp70 peptide vaccinatie tegen experimentele arthritis IV

DEC nummer: 2014.II.08.065

Inductie van regulatoire T cellen in reumatoïde arthritis

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: Wij willen de immuunrespons in de chronische ontstekingsziekten, zoals reuma, colitis en diabetes, beïnvloeden door regulatoire T cellen te leren om dit te onderdrukken. We verwachten dat door het aanmaken van deze regulerende afweercellen in patiënten (in ons geval muizen) de ziekte vermindert.

Globale aanpak vraagstelling: We vaccineren muizen met een fragment (peptide) van heat shock eiwitten zodat het immuunsysteem erop kan reageren met de aanmaak van regulatoire T cellen. In dit onderzoek willen we zoeken naar de meest optimale, en voor humane toepassing geschikte wijze van toediening van het peptide onder omstandigheden die de aanmaak van peptide-specifieke regulerende T cellen bevorderen. Vanwege de com-

plexiteit van de immuunrespons is het niet mogelijk dit te vervangen door bijvoorbeeld computer modellen. Waar mogelijk worden wel verdere in vitro experimenten uitgevoerd met materiaal afkomstig uit deze dieren om zo de resultaten beter te kunnen interpreteren. Dit is gebaseerd op experimenten beschreven in de literatuur en ervaring binnen onze groep met deze diermodellen en de te analyseren parameters.

Titel studie: Het verloop van een coccidiose-infectie in vleeskuikens: verschillen tussen kuikens die uitgebroed zijn in de broederij of in de stal

DEC nummer: 2014.II.08.066

Verschillen in gevoeligheid voor een darminfectie tussen vleeskuikens die uitkomen in een broederij of in de stal zelf

Achtergrond: Voor vleeskuikens die in de broederij uitkomen en naar de vleeskuikenstal vervoerd moeten worden geldt dat de vroeg uitgekomen kuikens tot wel 72 uur na uitkomen geen toegang tot voer hebben. De kuikens kunnen in deze periode gebruik maken van de reserves in hun dooier. Kuikens die uitkomen in de stal kunnen direct voer en water opnemen en kunnen de voedingsstoffen in de dooier gebruiken voor groei en ontwikkeling en het afweersysteem. De voorsprong / betere start zou aanzienlijke winst kunnen hebben voor diergezondheid en welzijn. In deze studie willen we dat nader onderzoeken.

Doel/hypothese: We verwachten dat de kuikens die in de stal zijn uitgekomen een betere weerstand hebben tegen een veelvoorkomende parasitaire darminfectie

(coccidiose). Dit zou tot uitdrukking kunnen komen door een lagere kans om besmet te raken en, als ze wel geïnfecteerd worden, een verminderd aantal uitgescheiden parasiet eieren of een korter durende infectie. Globale aanpak vraagstelling: De in de stal uitgekomen kuikens en in de broederij uitgekomen kuikens zullen ook in de vleeskuikenstal zelf uitgebreid worden gevolgd. Echter, als we alleen de coccidiose-infectie in de stal volgen hebben we geen invloed op de mate van infectie. Als in die ronde toevallig weinig coccidose eieren aanwezig zijn is het onmogelijk een verschil in respons op infectie tussen de groepen aan te tonen. Door de kuikens op 2 dagen leeftijd in isolatoren te zetten en op 10 dagen leeftijd een kunstmatige infectie met een milde Eimeria soort te geven kunnen we goed volgen hoe de infectie verloopt door vervolgens van individuele dieren regelmatig mest te onderzoeken om de mate van infectie te bepalen. Ook kunnen we dan zien hoe snel de door ons geïnfecteerde dieren, de dieren die nog niet besmet zijn kunnen infecteren. In de vleeskuikenstal is het onmogelijk invloed uit te oefenen op welke dieren, wanneer en met welke dosis ze besmet raken.

Titel studie: Effectiviteit van intranasaal IgA en IgG in de preventie van RSV infectie in BALB/c muizen

DEC nummer: 2014.II.08.067

Toediening van antistof via de neus 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 hart afwijkingen 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 wij willen onderzoeken of ze betere bescherming bieden tegen infectie met RSV in muizen.

Doel/hypothese: De effectiviteit van via de neus 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 na verschillende tijdsintervallen via de neus geïnfecteerd met RSV. 5 dagen na infectie met RSV zullen de muizen worden gedood om te kijken naar een aantal parameters van infectie: de hoeveelheid virus in de neus en longen en de aanwezigheid van ontstekingscellen.

Titel studie: The effect of vagotomy on the inflammatory response in the lungs

DEC nummer: 2014.II.08.068

De rol van de vagale zenuw in de ontstekingsreactie in de longen van ratten

Achtergrond: In 2009 kregen ongeveer 2000 mensen in Nederland de diagnose slokdarmkanker. Elk jaar stijgt het aantal mensen waarbij deze vorm van kanker wordt gevonden met 3%. Hierdoor heeft slokdarmkanker maagkanker uit de top tien van meest voorkomende kankers in Nederland verdrongen. Een operatie biedt voor patiënten zonder uitzaaiingen de beste kans op overleving. In het algemeen worden hierbij de slokdarm, inclusief lymfeklieren en de vagale zenuw (deze zenuw heeft belangrijke functies in onder andere de spijsvertering en immuunreactie), door de rechterborstkas verwijderd. Ondanks alle innovaties wordt deze operatie nog vaak vergezeld door ernstige long complicaties. Deze complicaties zijn de belangrijkste oorzaken van postoperatieve heropname op de intensive care en overlijden. De longcomplicaties na het verwijderen van de slokdarm worden onder andere veroorzaakt door de hevige ontstekingsreactie op de operatie. Nu is recent ontdekt dat de vagale zenuw een belangrijke rol speelt in de regulatie van de ontstekingsreactie. Het lijkt mogelijk om selectief de takken van de vagale zenuw naar de longen te sparen. Het is echter onbekend of die takken alleen ook een belangrijke beschermende rol spelen in de ontstekingsreactie in de longen. Aan de andere kant gaat het sparen van deze takken wel met het risico gepaard dat er kanker achter blijft.

Doel/hypotheses: Onze hypothese is dat het doorsnijden van de zenuwen naar de longen (takken van de vagale zenuw) de longcomplicaties na een slokdarm resectie veroorzaakt/verergert, omdat deze een belangrijke rol spelen bij de ontstekingsreactie in de longen. Het doel van deze studie is om te onderzoeken wat de functie is van takken van de vagale zenuw voor de longfunctie en (wanneer er beschadigingen optreden) op de ontstekingsreacties in de longen.

Globale aanpak vraagstelling: Middels een experiment zullen we de ontstekingsreactie in de longen van 3 groepen ratten vergelijken. In de eerste groep zijn alle takken van de vagale zenuw intact. In de tweede zijn alle takken van de vagale zenuw doorgesneden en in de laatste groep zijn alle takken van de vagale zenuw, behalve de takken naar de longen, intact. Door deze groepen te vergelijken zullen we ontdekken wat de rol is van de takken van de vagale zenuw naar de long, door de ontstekingsreacties in de long te bestuderen. Het is onverantwoord om de takken van de nervus vagus naar de longen tijdens een slokdarmresectie te sparen zonder dat er bewijs is voor het nut hiervan. Het gebruik van proefdieren om dit bewijs te leveren is noodzakelijk omdat de communicatie over en weer van de nervus vagus in de ontstekingsreactie in longen alleen in levende dieren gemeten kan worden. Door het experiment onder volledige narcose te laten plaatsvinden, zal het ongerief voor de proefdieren gering zijn.

Titel studie: **Modulating intracellular processing of h56 construct**

DEC nummer: 2014.II.08.069

Verandering intracellulaire verwerking construct wat codeert voor verschillende eiwitten van Tuberculose

Achtergrond: Tegen verschillende ziekten zoals Tuberculose bestaan geen goede vaccins. De oorzaak hiervoor is dat de algemeen gebruikte vaccinatiestrategieën in geval van deze infectieziekten slecht werken. Vooral voor de bacterie *Mycobacterium tuberculosis* omdat deze zich in cellen verstoppt. Dus, er zijn nieuwe vaccinatiestrategieën nodig, die er m.n. afweer tegen in cellen overlevende ziekteverwekkers moeten opwekken. Dit is mogelijk door zogenaamde CD8 T cellen, een bepaald type afweercel, te activeren. In context van het EU consortium waarin we deze studies verrichten, is besloten om vaccins, gebaseerd op 3 mycobacteriële eiwitten, te ontwikkelen. In deze studie willen we het werkingsmechanisme van de techniek op cellulair niveau gaan bestuderen om meer inzicht te krijgen in de techniek en eventuele gevaren.

Doel/hypothese: Het doel is om uitgaande van onze kennis een strategie te ontwikkelen die gebruikt kan worden om goede, CD8 T cel activerende vaccins te ontwikkelen. We weten nu dat het de CD8 T cellen de eiwitten herkennen maar de respons moet nog tot in detail worden uitgezocht.

Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van voorspelingsprogramma's hebben we bepaald welke onderdelen van de 3 mycobacteriële eiwitten in een muizenmodel CD8 T cellen kunnen activeren. Dit hebben we inmiddels kunnen bevestigen door middel van DNA tattoo

immunisatie in vivo door gebruik te maken van immuun activators. Voorbeelden hiervan zijn stabiliserende eiwitten zodat het vaccin langer stabiel is en sequenties die zorgen voor snelle opname door immuun cellen. Het construct met de 3 mycobacteriële eiwitten inclusief stabiliserende eiwitten zal worden vergeleken met een construct waar alleen de stabiliserende eiwitten in zitten, vooral op intracellulaire routes. De proef bestaat uit 3 DNA tattoo immunisaties in de eerste week waarna er aan het eind van de tweede week wordt gegeven wat voor immuun respons de muizen hebben tegen de mycobacteriële eiwitten waarvoor het DNA codeerde. Voor deze studies hebben we proefdieren nodig omdat bij vaccin onderzoek het erg belangrijk is hoe alle facetten van het immuunsysteem erop reageren en dat hierbij geen schadelijke gevolgen zijn.

Vergadering 17 september 2014

Titel studie: Development of a novel SSc model by engrafting NSG and RAG mice with PBMC isolated from SSc patients

DEC nummer: 2014.II.09.070

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 wat leidt tot een sterk verminderde functie waardoor een strakke huid, wondjes, nier- en hart/long problemen ontstaan. Deze problemen zijn vaak ernstig en leiden tot pijn, moeheid maar ook tot vroeg overlijden. De oorzaak van SSc is niet opgehelderd maar onze groep heeft de afgelopen jaren aangetoond dat de zogenaamde plasmacytoïde dendritische cellen (pDC's) een belangrijke rol spelen. Deze pDCs zijn zeer sterk verhoogd aanwezig in het bloed van patiënten en hebben een veranderde functie. Het belangrijkste dat we hebben aangetoond is dat deze pDCs vooral CXCL4 produceren. CXCL4 is een ontstekings eiwit dat betrokken lijkt te zijn bij het ziekte proces. 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 vooral 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 het chemokine CXCL4 en depletie van pDCs, in systemische sclerose te kunnen 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: Systemische sclerose is een ziekte met een lang en pijnlijk ziekteverloop. 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. Er is geen goede medicatie voor de behandeling van deze ziekte. 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. In het beschreven experiment zullen we muizen injecteren met humane bloedcellen (PBMC's) van gezonde vrijwilligers en van patiënten met systemische sclerose (SSc), of met een zoutoplossing als controle. In dit model ontstaat een zogenaamd graft versus host disease (GVHD), waarbij het fenotype van systemische sclerose zich ontwikkelt. Omdat in een eerder experiment de graft versus host disease (GVHD) zich te snel ontwikkelde, waarbij het niet mogelijk was om het fenotype van systemische sclerose te onderzoeken, zullen we, in tegenstelling tot het vorige experiment, nu zonder voorafgaande bestraling de cellen injecteren. Daarnaast willen we een tweede muizenstam toevoegen (Rag-muizen), waarvan bekend is dat zij een

tragere ontwikkeling van de GVHD hebben. Muizen van 4-5 weken oud worden geïnjecteerd met de cellen of een zoutoplossing. Na succesvolle transplantatie van de cellen worden de dieren opgeofferd. Na opoffering vindt isolatie van bloed, lymfeklieren, huid, beenmerg, longen, lever en milt voor het testen op de aanwezigheid van bepaalde celtypes en ontstekingsmarkers. Met dit model willen we direct de cellen van de patiënten in vivo bestuderen en een model ontwikkelen om nieuwe therapieën te testen.

Titel studie: Epicardiale ring laesies, hoogfrequente ablaties en eosophagale laesies

DEC nummer: 2014.II.09.071

Nieuwe hartritmestoornis therapie en veiligheidsaspecten

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. catheters (ablatie) gebeuren. De huidige ablatietechnieken hebben vaak een onvoldoende lange termijn werkzaamheid (door onvoldoende diepte en/of -grootte van het beschadigde weefsel), of een verhoogd complicatierisico. In de afgelopen 5 jaar heeft onze onderzoeksgroep een nieuwe ablatiemethode ontwikkeld, waarbij wel goede en diepe weefselbeschadiging gemaakt konden worden, maar 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. Momenteel bevindt het onderzoek zich in een fase waarin de therapie bijna op mensen kan worden toegepast. Hiervoor moeten nog enkele kleine testen worden uitgevoerd, mede om de veiligheid te onderzoeken.

Doel/hypothese: Deze studie is onderverdeeld in 3 aparte experimenten. Tijdens het eerste experiment zullen we een catheter-electrode gebruiken die groter is dan de normale. Dit omdat het bij mensen de bedoeling is de grotere catheter te gebruiken. Met zowel de grote als de normale catheter zullen we enkele ablaties uitvoeren met verschillende energieën. Na afloop van het experiment zullen we de grootte en de diepte van de hartweefselbeschadiging onder de microscoop beoordelen. De hypothese is dat we met specifiek gekozen energieën met beide catheters dezelfde diepte kunnen behalen, deze diepte is namelijk cruciaal voor de effectiviteit van de behandeling. Tijdens het tweede deel van het experiment zullen we een nieuwe maar vergelijkbare techniek testen op effectiviteit. Hierbij vergelijken we twee technieken. De verwachting is dat onze nieuwe techniek veel effectiever is bij gelijke toegediende energie, maar veel minder nadelige effecten heeft. Hierdoor zullen patiënten bijvoorbeeld niet meer onder narcose hoeven voor een behandeling. In het derde deel van het experiment onderzoek we de veiligheid. Belangrijk bij het beschadigen van het hart is dat we alleen het hartspierweefsel beschadigen en niet de omliggende weefsels, zoals zenuwen, bloedvaten en de slokdarm. Nadat we in eerdere

studies het effect van deze nieuwe ablatietechniek op de zenuwen en bloedvaten onderzocht hebben, dienen we nog het effect op de slokdarm te onderzoeken.

Globale aanpak vraagstelling: Aan het begin van de proef zullen we experiment 1 en 2 uitvoeren. Hiertoe zullen we beide ablatie apparaten direct op de buitenkant van het hart plaatsen. Nadat de therapie is gegeven, zal het dier voor 19 dagen in de stal verblijven. Bij het varken willen we met behulp van de nieuwe ablatietechniek bewust weefselbeschadiging aan de slokdarm maken. Dit doen we door het ablatieapparaat direct op de slokdarm te plaatsen. Twee dagen na deze proef (dag 21) zullen we het dier onder sedatie euthanaseren en zowel het hart als de slokdarm uitnemen voor microscopisch onderzoek. Voor dit onderzoek zijn dierproeven noodzakelijk, omdat het 1. een nooit eerder op mensen toegepaste techniek is, en 2. de slokdarm en het hart na 3 weken overleving verwijderd dienen 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: The role of LAIR-1 in the pathogenesis of Systemic sclerosis (SSc)

DEC nummer: 2014.II.09.072

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

Achtergrond: Systemische sclerose (SSc) is een ernstige auto-immuun ziekte waarbij de huid en interne organen aangedaan zijn. SSc patiënten hebben verbindweefseling (fibrose) van de organen wat 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, hoewel 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 waarin de receptor normaal aanwezig is (wild type C57BL/6), en muizen waarin de LAIR-1 receptor uitgeschakeld is (LAIR-1 knockout muizen; C57BL/6 LAIR-/-). 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 4 groepen muizen. De muizen zullen 7 dagen per week, gedurende 4 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 7-10 dagen zullen van elke groep de helft van de muizen opgeofferd worden om de vroege fase van de ziekte te onderzoeken. De overgebleven muizen zullen opgeofferd worden na 4 weken om de late en meer ernstige fase van de ziekte te onderzoeken. Op de dag van opoffering 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 leidt 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: Challenge test met E. coli voor de zuivere lijnen van Cobb

DEC nummer: 2014.II.09.073

Onderzoek naar de gevoeligheid voor colibacillose van enkele zuivere lijnen van Cobb vleeskuikens

Achtergrond: Infecties met de bacterie E. coli bij vleeskuikens vormen wereldwijd een probleem. Vleeskuikens met deze ziekte (colibacillose) zijn langere tijd ziek, waardoor het welzijn van de kuikens ernstig wordt aangetast. Deze aantasting in gezondheid en welzijn zal zich uiten in ziek zijn, een mindere groei en eventueel sterfte. Bij deze ziekte worden de dieren vaak behandeld met antibiotica. De werkzaamheid van antibiotica in de pluimveesector is afgenomen, mogelijk door veelvuldig en onjuist gebruik. Dit zou ook leiden tot verminderde werkzaamheid van antibiotica bij de mens. Momenteel wordt er gezocht naar alternatieven voor de behandeling van vleeskuikens met antibiotica. Door fokbeleid wil men proberen een robuuster vleeskuiken te selecteren dat meer bestand is tegen deze infectieziekte of beter kan omgaan met deze bacterie/infectie.

Doel/hypothese: Er wordt onderzocht of er een verschil bestaat tussen de verschillende lijnen die in de fokkerij het uitgangsmateriaal vormen voor het vleeskuiken. Doel is om vast te stellen of er lijnen zijn, die in bijzondere

mate meer of minder gevoelig zijn voor gevolgen van de belasting met de bacterie E. coli, een belangrijke ziektekiem in de pluimveehouderij.

Globale aanpak vraagstelling: Het gebruik van proefdieren in dit geval is noodzakelijk om een besmetting onder praktijkomstandigheden na te bootsen. De dieren worden blootgesteld aan een variant van de bacterie E. coli die ook in praktijkomstandigheden ziekte veroorzaakt bij deze dieren. Kuikens worden onder gecontroleerde omstandigheden besmet met de bacterie, waarna de mate van het optreden van ziekteverschijnselen wordt bestudeerd. Analyse van de resultaten zal aanwijzen of er verschillen tussen de lijnen bestaan.

Vergadering 15 oktober 2014

Titel studie: Does T-cell epitope has a role in immunogenicity of different types of human interferonbeta products?

DEC nummer: 2014.II.10.074

Heeft T-celepitope een rol in de immunogeniciteit van verschillende menselijk interferon bèta producten?

Achtergrond: Immunogeniciteit van eiwitmedicijnen zoals interferon bèta is een groot probleem. Dit 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 bèta krijgt zo'n afweerreactie. Wij willen onderzoeken waarom de afweerreactie ontstaat bij het gebruik van deze medicijnen. Kleine aggregaten (specifieke eigenschap van de molecuulstructuur) in de medicijnen, of de (structuur van) eiwitten zelf zouden een oorzaak kunnen zijn.

Doel/hypothese: Bepalen in welke mate T-celepitopen van interferon bèta drugs kan bijdragen tot de inductie van een immuunrespons in muizen.

Globale aanpak vraagstelling: FVB / N transgene muizen en controlemuizen zullen worden behandeld met interferon bèta geneesmiddelen met en zonder T-celepitopen en aggregaten. Deze drugs zijn vijf keer per week Coeliakie geïnjecteerd gedurende 3 weken. Vóór de injectie beginnen en tijdens de week injectie bloedmonsters van wang punctie en getest een immune reactie op de drugs.

Titel studie: Palivizumab biosimilar in katoenratmodel

DEC nummer: 2014.II.10.075

Een alternatief voor de injecties met antistoffen om een Respiratoir Syncytieel Virus (RSV) luchtweginfectie te voorkomen?

Achtergrond: RSV bronchiolitis (lagere luchtweginfectie) 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 vaccinatie met antistoffen om hiermee het aantal RSV-gerelateerde ziekenhuisopnames te beperken. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat deze vaccinatie het aantal RSV-gerelateerde ziekenhuisopnames halveert. Doel/hypothese: Het testen van een biosimilar, een medicijn dat erg lijkt op palivizumab dat eerder op de markt is verschenen, maar wat niet identiek is aan dit geneesmiddel, op effectiviteit in RSV-infectie preventie. Vanwege unieke chemische en biologische eigenschappen zijn biosimilars niet automatisch therapeutisch gelijkwaardig aan het originele geneesmiddel.

Globale aanpak vraagstelling: Door het gebruik van diermodellen kunnen we het effect van de biosimilar ten opzichte van de huidige gebruikte antistof injecties vergelijken. De katoenratten zullen de beide vaccins 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. Deze effectiviteitsstudie kan niet zonder de hulp van proefdiermodellen omdat het aansturen van het afweersysteem ten tijde van immuunsysteem ten tijde van virale infecties een complexe en multifactoriële aangelegenheid is. Mede omdat virussen specifieke organen infecteren (de longen bij RSV) is dit onderzoek niet mogelijk zonder proefdieren.

Titel studie: Stem Cell Therapy for Chronic Myocarditis

DEC nummer: 2014.II.10.076

Stamcel Therapie voor Myocarditis

Achtergrond: Myocarditis is een ziekte waarin de hartspier ontstoken is. Dit kan verschillende oorzaken hebben, maar vaak ontstaat het doordat een virus bepaalde kenmerken (markers) heeft die op eiwitten van hartcellen lijken. Soms valt het virus het hart zelfs nog aan. Het afweersysteem probeert het virus op te ruimen, maar herkent daarna door die markers de eigen hartcellen ook als 'indringer'. Hierdoor blijft het afweersysteem, en vooral de T-cellen, het hart aanvallen lang nadat het virus verdwenen is. Dit noemen we de chronische fase van myocarditis. In dit onderzoeksplan beogen we de chronische fase van myocarditis te behandelen met stamcel therapie. Myocarditis is een ziekte die voornamelijk voorkomt bij jonge volwassenen. In de meerderheid van de gevallen zijn er geen duidelijke symptomen dat iemand myocarditis heeft, maar op de langere termijn krijgt een groot deel van de patiënten juist een verwijd hart en daarmee hartfalen. Er bestaat nog steeds geen behandeling voor (de chronische fase van) myocarditis. Hoe vaak

myocarditis voor komt is lastig te zeggen, juist vanwege de vage klachten. Wel is aangetoond dat ongeveer 10% van de patiënten met onverklaard hartfalen myocarditis blijkt te hebben. Slechts de helft van de patiënten met myocarditis leeft nog na vijf jaar. In onze onderzoeksgroep hebben we de afgelopen jaren veel met stamcellen gewerkt, in het bijzonder met mesenchymale stamcellen (MSC; beenmerg stamcellen) en cardiomyocyt progenitor cellen (CMPC; hart stamcellen). We hebben ontdekt dat deze stamcellen het afweersysteem kunnen onderdrukken. Dit doen ze op afstand, door stoffen uit te scheiden die de cellen van het afweersysteem, vooral de T-cellen, remmen.

Doel/hypothese: In dit voorstel willen wij onderzoeken of deze stamcellen ook de auto-reactieve afweercellen bij myocarditis kunnen remmen. Om dit te onderzoeken gaan we experimenten doen met muizen. Ons doel is hierbij dat we met de muizenstudie zoveel mogelijk informatie krijgen over de effectiviteit van stamcel therapie. Daarna willen we achterhalen in welke fases van de chronische myocarditis behandeling met stamcellen effectief zal zijn en of multiple behandelingen toegevoegde waarde hebben. Bij positieve resultaten kunnen we vervolgens bij myocarditis patiënten onderzoeken of zij overeenkomstig reageren.

Globale aanpak vraagstelling: In de muizenstudie geven we muizen myocarditis door een van de harteiwitten, myosine, in te spuiten. Hierdoor krijgt de muis een myocarditis die vergelijkbaar is met de chronische fase van myocarditis in de mens. Vervolgens willen we onderzoeken welke stamcel, de MSC of CMPC, het beste helpt en of deze nieuwe therapie nog op elk moment tijdens

de chronische fase kan helpen. Daarnaast willen we weten of het beter is om meerdere malen stamcellen te geven in plaats van een enkele keer. De noodzaak voor proefdieren komt voort uit het feit dat we alle in vitro experimenten gedaan hebben, maar dat het onmogelijk is om het volledige immuunsysteem en al zijn interacties in vitro na te bootsen. Hiervoor moeten we in vivo gaan werken, waarbij de muismodellen voor myocarditis het best bestudeerd zijn.

Titel studie: Spectral Tissue Sensing for Nerve Detection

DEC nummer: 2014.II.10.077

Optische detectie van zenuwen

Achtergrond: Blokkeren van de geleiding in perifere zenuwen is een veel toegepaste methode voor pijnbestrijding of voor anesthesie om delen van het lichaam in wakkere patiënten te kunnen opereren. Dit heeft grote voordelen voor de patiënt en minder bijwerkingen dan een algehele narcose, in het bijzonder voor patiënten met andere aandoeningen of bij hoge leeftijd waarin het risico over het algemeen al hoger is. Voor een goed effect van de anesthesie moet het geneesmiddel zo dicht mogelijk bij de zenuw gespoten worden. Tegelijkertijd moet men voorkomen het middel direct in de zenuw of bloedvaten te spuiten. Hiervoor wordt op dit moment meestal een methode gebruikt waarbij de naald als een elektrode gebruikt wordt en een stroom wordt toegevend om te kunnen zien of men in de buurt van de zenuw is. Deze methode, ondanks dat hij standaard is, is echter niet heel accuraat (sensitiviteit van 75%). Een mo-

gelijke oplossing hiervoor is het gebruik van het meten van het (gereflecteerde) lichtspectrum van het weefsel. Dit verschilt per weefseltype.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het testen van het gebruik van lichtspectrum metingen om verschillende weefseltypen nauwkeurig te onderscheiden. Hiervoor is uitgebreid vooronderzoek gedaan in kadavers. Omdat in kadavers geen geoxigeneerd bloed circuleert, kan het spectrum in levende individuen echter verschillen. Daarom zijn er nu metingen in levende dieren nodig. Hiermee kunnen de lichtspectra verfijnd en de techniek verbeterd worden om dit in de toekomst bij patiënten te kunnen gebruiken.

Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studie zullen we het varken onder anesthesie brengen en verschillende anatomische structuren en weefseltypen exposeren zodat de lichtspectra gemeten kunnen worden. Daarnaast zullen we op basis van de huidige technieken (elektrische stimulatie, echo) de naald opvoeren en de technieken met elkaar vergelijken. Vervolgens zullen er na terminatie weefsel monsters verzameld worden van de plekken waar de naald zat om verder te analyseren of er potentieel schadelijke effecten zijn voor de omgeving. Om deze reden zullen alleen acute experimenten doorgevoerd worden. Omdat de spectra van levend weefsel anders is (door bloedgehalte en zuurstofgehalte van het bloed) en er meer variatie is door bewegingen en hartslag moeten deze experimenten nu in levende dieren doorgevoerd worden voor de stap naar de mens gedaan kan worden.

Titel studie: RSV infectie in PCDH1 KO muizen: BALB/c of C57BL6?

DEC nummer: 2014.II.10.078

Hoe ontstaat astma: een nieuw muizenmodel

Achtergrond: Astma wordt gekenmerkt door een chronische ontsteking van de luchtwegen, die luchtwegschade en verminderde longfunctie veroorzaakt. Astma ontstaat echter al op jonge leeftijd, en de processen die een rol spelen bij het ontstaan van astma verschillen van de processen die de chronische ziekte in stand houden. De behandeling van astma is gebaseerd op het onderdrukken van deze chronische ontsteking. De sleutel voor het vinden van een behandeling die astma kan voorkomen of genezen ligt echter in de kennis over het ontstaan van de ziekte. Studies in jonge kinderen laten zien dat het ontstaan van astma wordt veroorzaakt door virale luchtweginfecties en het ontwikkelen van een allergie tegen ingeademde allergenen op jonge leeftijd. De aanleg voor astma is echter ook erfelijk bepaald: je moet er kwetsbaar voor zijn. Kinderen die kwetsbaar zijn voor de ontwikkeling van astma hebben vaak bij geboorte al een lagere longfunctie en overgevoelige luchtwegen. Om nu in detail te kunnen bestuderen hoe bij een kwetsbaar kind astma ontstaat na blootstelling aan virale infecties en allergenen, hebben we nieuwe experimentele modellen nodig. Wij hebben een nieuw muismodel ontwikkeld, waarin we een astma-gen uit de mens, Protocadherine-1 (PCDH1), hebben uitgeschakeld in de muis. Deze muizen hebben overgevoelige luchtwegen, net als het kind dat kwetsbaar is voor astma.

Doel/hypothese: Het inzicht krijgen in het ontstaan van astma. De eerste studie in ons nieuwe diermodel is erop gericht te bepalen in welke van de 2 beschikbare muizen stammen waarin we PCDH1 hebben uitgeschakeld het beste werkt: muizen met C57BL6 of BALB/c achtergrond.

Globale aanpak vraagstelling: Muizen met en zonder het bewuste astma gen zullen geïnfecteerd worden met respiratoir syncytieel virus (RSV). Op dag 2 en 5 na infectie zullen we in de longen kijken naar de aanwezigheid van virus, cellen, ontstekingsmediatoren en anatomische afwijkingen om zo de rol van het astma gen in het ontstaan van astma beter te begrijpen. Proefdieren spelen in dit onderzoek een essentiële rol, RSV infecteert namelijk meerdere soorten cellen en de reactie van het immuunsysteem bepaalt de mate van respons. Dit is niet in een cel of computermodel te onderzoeken.

Vergadering 12 november 2014

Titel studie: Role of leukotriene B4 (LTB4) in cardiac ischemia/reperfusion (I/R) injury - leukocyte influx and activation of leukocytes in the infarcted myocardium

DEC nummer: 2014.II.11.079

Blokkade van het eiwit LTB4 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: LTB4 is een eiwit dat erg goed in staat is 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), die zich op afweercellen bevindt. 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 hartcellen. Als dit te veel afweercellen zijn kan dit negatieve gevolgen hebben voor de grootte van het infarct en de pompfunctie van het hart. Het tegenhouden van deze afweercellen kan zorgen voor kleinere infarcten. Mogelijk kan dit door de BLT1 receptor te blokkeren met een nieuw medicijn. Doel/hypothese: Muizen die behandeld worden met een medicijn dat de BLT1 receptor blokkeert hebben na 1 dag een kleiner infarct 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 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 placebo. Deze behandeling krijgen ze via de mond toegediend. Een dag later worden het hart, bloed en andere organen uitgenomen voor analyse 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: Immune response of delivery systems in vivo

DEC nummer: 2014.II.11.080

Afweersysteem activatie van aflever systemen voor medicijnen in muizen

Achtergrond: In de afgelopen 10 jaar zijn er steeds meer medicijnen zoals therapeutische peptiden, eiwitten en DNA stukken op de markt gekomen i.p.v. de kleine molecuul medicijnen (zoals asparine). Dit nieuwe type medicijnen noemen we biopharmaceuticals. Deze werken in veel gevallen goed tegen verschillende ziektes. Helaas zijn deze biopharmaceuticals onderhevig aan een aantal 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 verminde-

ren van problemen bij het afleveren van biopharmaceuticals. Daarom zijn er afleversystemen (inpakmanieren) in ontwikkeling. Deze formuleringen moeten instaat zijn afbraak tegen te gaan en het makkelijker te maken om een cellulaire membraan over te gaan. In deze afleversystemen zullen dan de biopharmaceuticals verpakt worden om zo toch hun locatie te bereiken. Echter is het nog onduidelijk of deze afleversystemen op zich zelf al het afweersysteem van de mens zullen activeren. Wanneer het afweer (immuun) systeem geactiveerd wordt door het afleversysteem of wanneer de afleversystemen het af te leveren medicijn meer herkenbaar maken voor het afweer systeem, dan kan dit wellicht gebruikt worden als afleversysteem voor vaccinatie doeleinden i.p.v. medicijn aflevering.

Doel/hypothese: Doel van de studie is het bepalen van de mogelijkheid van de afleversystemen in ontwikkeling om het immuunsysteem te activeren. Wanneer een afleversysteem niet immuun activerend is zullen wij vergelijkbare activatie zien van de sensorische cellen van het afweersysteem, die gestimuleerd zijn met een controle, en zullen wij geen verhoogde reactie zien tegen model medicijn. Als er wel activatie is van het immuun systeem zal er vergelijkbare activatie zien met een positieve controle. Dit zal plaatsvinden in een muismodel.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie zal worden gekeken naar de mogelijke activatie van het immuunsysteem door de afleversystemen van medicijnen, om zo mogelijk toekomstig gebruik voor mensen veiliger te maken. Dit wordt gedaan door te kijken naar het activeren van sensorische cellen van het immuunsysteem. Deze kunnen opruimende immuun cellen induceren

en een antilichaam response te weeg brengen. Globale aanpak van de proef is het injecteren van een muis met de verschillende aflever/inpak systemen samen met een model medicijn en dan te kijken op dag 1 naar de vroege activatie, op dag 7 naar de witte bloed cel activatie en op dag 35 naar antilichaam productie. Door de complexiteit van verschillende factoren in het afweersysteem is het noodzakelijk om dit in een diermodel te bestuderen.

Titel studie: Immunogenicity of splided epitopes from listeria derived secretory proteins

DEC nummer: 2014.II.11.081

Een nieuw doelwit van aan elkaar geplakte fragmenten ziekteverwekker voor afweerreacties

Achtergrond: Ziekteverwekkers verstopten zich na binnendringen van het lichaam vaak in cellen. Alleen de zogenaamde CD8 T cellen van het afweersysteem kunnen zulke ziekteverwekker-bevattende cellen elimineren. CD8 T cellen kunnen zien of een cel een ziekteverwekker bevat, omdat de ziekteverwekker door zijn gastheercel in kleine stukjes gehakt wordt. Deze kleine stukjes worden vervolgens op het celoppervlak gepresenteerd. Vooral het proteasoom, een cellulair enzym, is verantwoordelijk voor de afbraak van intracellulaire ziekteverwekkers. Tot nog toe werd gedacht dat alleen de kleine fragmenten, die overblijven na afbraak van een ziekteverwekker, aan CD8 T cellen gepresenteerd zouden worden. Onlangs echter is gebleken dat het proteasoom niet alleen knipt

maar ook plakt. Dus, naast afbraakproducten kunnen waarschijnlijk ook aan elkaar geplakte fragmenten aan CD8 T cellen gepresenteerd worden.

Doel/hypothese: Doel van dit onderzoek is om na te gaan of herkenning van aan elkaar geplakte fragmenten van een ziekteverwekker belangrijk is voor afweer tegen infecties.

Globale aanpak vraagstelling: Met deze studie willen we kijken of aan elkaar geplakte fragmenten van bekende eiwitten van ziekteverwekker (bacterie) *listeria monocytogenes* verantwoordelijk zijn voor de grote immuun respons die we in een bepaalde muizen strain zien. Vooralsnog is niet bekend tegen welk deel van het eiwit de muizen reageren. Dit kan komen omdat alleen naar continue fragmenten werd gekeken. Met deze studie willen we ook de geplakte delen meenemen in de overweging. De opzet van de studie is om cellen te maken die een eiwit presenteren waarvan we denken dat het epitoom (stukje van het eiwit waar het immuun systeem tegen reageert) erin zit. We gaan muizen met *listeria* infecteren zodat ze specifieke T cellen krijgen en zullen vervolgens deze T cellen testen op onze gemaakte cellen. Als de T cellen onze cellen herkennen weten we dat het epitoom in het eiwit zit. Vervolgens gaan we dit eiwit opsplitsen in delen en kijken waar het epitoom precies zit. Omdat een immuunrespons een systemisch effect is en er een infectie met *listeria monocytogenes* moet plaats vinden hebben we proefdieren nodig. In dit geval hebben we natuurlijk voor het muismodel gekozen waarin het stukje waartegen het immuunsysteem reageert, niet bekend is.

Titel studie: Bepalen van de immunodominantie hiërarchie na peptide vaccinatie met dc's of dermale DNA tattoo

DEC nummer: 2014.II.11.082

Het controleren van wanneer delen van een ziekteverwekker aan het immuunsysteem worden gepresenteerd en zo een bredere immuunrespons opwekken

Achtergrond: Het proces wat bepaald tegen welke stukjes eiwit (peptiden) een respons wordt ontwikkeld en tegen welke niet is bekend als de immunodominantie hiërarchie. Het blijkt wanneer en hoe snel peptiden van ziekteverwekkers gepresenteerd worden aan het immuun systeem van belang is voor de hiërarchie; hoe eerder een peptide gepresenteerd wordt, hoe beter de respons. Doel/hypothese: Het doel is om meer kennis te ontwikkelen van hoe de immunodominantie hiërarchie wordt vastgesteld en zo als potentiële vaccinatie strategie kan worden gebruikt.

Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van dit onderzoek willen we meer te weten komen over hoe we kunnen vaccineren om een brede immunologische respons te krijgen. Hoe breder (tegen meer delen van ziekteverwekker gericht) de immuunrespons, hoe groter de kans dat de ziekteverwekker ook daadwerkelijk gedood wordt. Voor dit onderzoek zijn muizen studies nodig die als model voor mensen kunnen dienen. Het plan van aanpak is in eerste instantie om de bestaande (verbeterde) methoden om alle peptiden in 1 keer aan het bieden aan het immuun systeem te vergelijken met elkaar. De best werkende wordt hiervan uitgekozen en getest in een infectie model waarbij een influenza infectie wordt gebruikt om

de natuurlijke infectie na te bootsen en zo te kijken of de vaccinatie gewerkt heeft en er een bredere immuunrespons opgewekt is. Dit zou dan ook resulteren in lagere hoeveelheden virus in de longen. Als laatste willen we op basis van dit resultaat een vaccinatie-challenge proef doen maar dan met DNA tattoo immunisatie coderend voor geoptimaliseerde eiwitten. DNA tattoo immunisatie is toegankelijker dan iv spuiten en moduleert meer een vaccinatie. Door de eiwitten op basis van de resultaten van C2 nog beter te maken hopen we om bescherming te induceren. Het zou voordelig zijn voor een menselijke populatie waarin er ook in de huid of spier gevaccineerd wordt.

Titel studie: De effectiviteit van een nieuw antilichaam tegen Her2 in een subcutaan tumormodel

DEC nummer: 2014.II.11.083

Een nieuw Her2-antistof voor de behandeling van borstkanker

Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor kanker. Antistoffen herkennen hun target met een variabel deel en zetten het immuunsysteem aan met behulp van hun constante deel. Op basis van hun constante deel kunnen antistoffen ingedeeld worden in verschillende isotypes zoals IgM, IgD, IgG, IgA en IgE. Deze isotypes zetten verschillende immuunfuncties aan. Bijna alle therapeutische antistoffen zijn op dit moment van het IgG isotype. In een deel van de borstkankerpatiënten brengen de kankercellen een eiwit, genaamd Her2, tot expressie. Deze patiënten worden op

dit moment behandeld met een antistof specifiek tegen dit eiwit. Er zijn twee verschillende antistoffen op de markt. Echter hoewel deze antistoffen het leven van de patiënten verlengt, geneest het niet. Daarnaast reageert een deel van de patiënten helemaal niet op de behandeling of alleen tijdelijk. In eerder onderzoeken hebben we laten zien dat IgA antistoffen net zo effectief zijn als IgG antistoffen. Daarnaast lijkt een combinatie van de antistoffen nog effectiever. Op basis van deze data is er een nieuwe antistof ontwikkeld die eigenschappen van zowel het IgG als het IgA antistof heeft. In deze studie willen we de effectiviteit van dit nieuwe antilichaam testen. Doel/hypothese: De effectiviteit van het nieuwe Her2-antistof testen in een muismodel voor kanker. Globale aanpak vraagstelling: Voor dit model worden kankercellen onder de huid van de muis ingespoten. In een klein experiment zullen we eerste de juiste hoeveelheid cellen bepalen. Vervolgens zullen we deze hoeveelheid gebruiken in het vervollexperiment. In dit experiment zullen we de muizen zodra er tumoren gevormd zijn behandeld worden met het nieuwe antistof, controles voor dit antistof, en de antistoffen die momenteel al op de markt zijn. Voor de effectiviteit van antistoffen zijn verschillende factoren belangrijk, zoals bereikt het antistof de kankercellen, trekt het de juiste immuuncellen aan, en kunnen deze immuuncellen de kankercellen doden. Deze vragen zijn alleen in proefdieren te beantwoorden, daarom is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: De rol van het NLRP3 inflammasome in ongunstig remodeleren van het hart

DEC nummer: 2014.II.11.084

Het NLRP3 inflammasome als mogelijk nieuwe strategie voor de behandeling van hartfalen

Achtergrond: Bekend is dat een eiwit, het NLRP3 inflammasome, betrokken is bij hartzieken zoals een hartinfarct. Ook zijn er sterke aanwijzingen dat het inflammasome betrokken is bij de ontwikkeling van hartfalen, dit is echter nog nooit onderzocht. Wij willen experimenten uitvoeren om de rol van het inflammasome aan te tonen in de ontwikkeling van het ziektebeeld hartfalen. Deze kennis zal ons in staat stellen om nieuwe medicijnen te ontwikkelen die de ontwikkeling van hartfalen kan vertragen of voorkomen.

Doel/hypothese: Het doel is om de rol van het NLRP3 inflammasome te ontrafelen in de ontwikkeling van het ziektebeeld hartfalen. Wij verwachten dat het inflammasome zorgt voor schadelijke processen in het hart waardoor er eerder hartfalen ontstaat.

Globale aanpak vraagstelling: Hartfalen is een complex ziektebeeld en om dit goed te kunnen bestuderen en in de toekomst medicijnen te kunnen ontwikkelen is het gebruik van proefdieren helaas noodzakelijk aangezien een proefdiermodel het dichtst in de buurt komt bij het menselijke ziektebeeld. Wij zullen muizen gebruiken die het inflammasome eiwit niet bezitten. Door deze muizen te vergelijken met normale muizen kunnen wij de rol van

het inflammasome bestuderen. Beide groepen muizen zullen een behandeling ondergaan waardoor zij hartfalen ontwikkelen.

Titel studie: Effecten van vaccinatie met een paratuberculose vaccin op het ontwikkelende immuunsysteem van geitenlammeren en interferentie met immunologische diagnostiek van paratuberculose

DEC nummer: 2014.II.11.085

Effecten van vaccinatie met een paratuberculose vaccin op het ontwikkelende immuunsysteem van geitenlammeren en interferentie met immunologische diagnostiek van paratuberculose

Achtergrond: Paratuberculose komt voor op ruim 70% van de Nederlandse melkgeiten houderijen. De infectie heeft als gevolg zowel economische schade voor de veehouder (minder melkproductie, uitputting van dieren en sterfte) maar is door het chronisch progressieve karakter ook een aantasting van het welzijn van de geiten. De vaccinatie kan de progressie van de ziekte vertragen maar voorkomt infectie niet. Voor de bestrijding is diagnostiek in een gevaccineerde populatie daarom belangrijk. Om geen dieren ten onrechte als geïnfecteerd aan te wijzen en te doden is het belangrijk om inzicht te hebben in de duur van de door het vaccin geïnduceerde afweer reactie.

Doel/hypothese: De duur van de door het paratuberculose vaccin geïnduceerde afweer reactie bepalen bij jonge geiten waar het immuun systeem nog in ontwik-

keling is zodat voorkomen kan worden dat dieren ten onrechte als geïnfecteerd bestempeld worden bij gebruik van de bestaande diagnostische testen.

Globale aanpak vraagstelling: De reactie van de geit op de paratuberculose vaccinatie in de tijd is alleen te meten door het dier te vaccineren en te testen. Door gebruik te maken van een wiskundig model voor de afweer reactie en de cellulaire turn-over kan de duur van de studie beperkt worden waardoor ongerief voorkomen wordt. Daarnaast kan door deze methode die het verloop van reactie berekent de frequentie van metingen lager worden waardoor het aantal handelingen per dier daalt. De studie wordt direct uitgevoerd in het doeldier en de gegevens zijn direct relevant voor de vraagstelling in het veld.

Titel studie: Intranasaal IgA en IgG voor de preventie van influenza infectie in C57BL/6 muizen

DEC nummer: 2014.II.11.086

Toediening van antistof via de neus voor de preventie van Influenza A infectie in muizen

Achtergrond: Influenza wordt veroorzaakt door het influenzavirus type A of B. Het is een acute aandoening van de luchtwegen die met name voorkomt in de koude jaargetijden. De type A-virussen kenmerken zich door een grote mate van variatie in hun oppervlakte-eiwitten, het hemagglutinine (H) en het neuraminidase (N). Er bestaan verschillende subtypen. Voorbeelden hiervan zijn H1N1, H1N2 en H3N2. Deze subtypen circuleren niet allemaal tegelijk, maar vaak in begrensde tijdvakken.

Het influenzavirus kan bijna elk jaar een grote of kleine epidemie veroorzaken met hetzelfde ziektebeeld bij alle leeftijdsgroepen. Dit komt doordat van tijd tot tijd nieuwe virusvarianten ontstaan door veranderingen in de eiwitten (antigenen) op het oppervlak van het virus (antigene drift). Doordat de afweer is gericht tegen oppervlakte-antigenen, omzeilt het virus de immuniteit die in de bevolking door natuurlijke infectie of vaccinatie is opgebouwd. Plotselinge veranderingen in een subtype kunnen ook leiden tot een sterk afwijkende antigeenstructuur (antigene shift). Het influenzavirus kan zich dan op grote schaal verspreiden omdat mensen weinig of geen immunologisch verweer hebben tegen dit geheel of gedeeltelijk vernieuwde virus. Er kan dan een wereldwijde epidemie (pandemie) ontstaan.

Doel/hypothese: De effectiviteit van via de neus toediening van antistoffen van het IgA en IgG isotype in preventie van Influenza A infectie in muizen bepalen.

Globale aanpak vraagstelling: In de neus van de muizen zal IgG of IgA varianten van anti-influenza A antistof worden ingespoten. Vervolgens worden de muizen na verschillende tijdsintervallen via de neus geïnfecteerd met Influenza A. 14 dagen na infectie met Influenza A zullen de muizen worden geëuthanaseerd om te kijken naar een aantal parameters van infectie: de hoeveelheid virus in de neus en longen en de aanwezigheid van ontstekingscellen.

Vergadering 8 en 10 december 2014

Titel studie: 1Valve1

DEC nummer: 2014.II.12.088

1Valve - een kunsthartklep voor een leven lang

Achtergrond: Ziekte aan de hartklep komen wereldwijd steeds meer voor. Op jonge en oude leeftijd worden daarom hartklepvervangingen uitgevoerd om zo de kwaliteit van leven te verhogen. Met de toename van de oudere populatie zal het aantal hartklepvervangingen verdriedubbelen naar 850.000 in 2050. De huidige hartklepprotheses zijn mechanische (gemaakt van een metaal soort) of biologisch (gemaakt van rund- of varkensweefsel). Helaas hebben beide type een aantal nadelen. Het risico van de mechanische klep is het ontwikkelen van embolieën (bloedpropjes) die in de long of hersenen terecht kunnen komen en schade kunnen veroorzaken (herseninfarct of longembolie). Om dit te voorkomen moeten de patiënten met een mechanische klep levenslang antistollingsmedicijnen slikken. Deze medicatie is voor jonge vrouwen een contra-indicatie als ze nog zwanger willen worden gezien het schadelijke effect op het ongeboren kind. Het nadeel van de biologische klep is de beperkte duurzaamheid, de huidige generatie biologische hartkleppen zullen na ongeveer 15 jaar vervangen moeten worden. Vooral voor volwassen

en jonge kinderen met aangeboren hartafwijkingen zijn de huidige protheses niet toereikend, maar een “second best” behandeling.

Doel/hypothese: Door middel van regeneratieve geneeskunde streven we ernaar een hartklep te ontwikkelen die mee kan groeien en adapteren op de dynamiek van een menselijk lichaam, bestaat uit (eigen) weefsel en gemakkelijk te verkrijgen is.

Globale aanpak vraagstelling: In de studie 1Valve werken we aan het ontwikkelen van een hartklep die gemaakt is van een polymeer. Deze wordt in de vorm van een hartklep geweven (via electrospinnen). Deze geweven kunststof hartklep wordt de scaffold genoemd (de mal). In het laboratorium testen we de klep op zijn mechanische eigenschappen, simuleren we weefsel groei en kijken we naar de afweerreactie van het lichaam en de effecten die dit op de klep en een lichaam heeft. Voordat een kushartklep in mensen gebruikt kan worden zal deze op veiligheid en effectiviteit moeten worden getest. Met behulp van een diermodel (schapen) worden alle afzonderlijke aspecten die in-vitro getest zijn bij elkaar gebracht. Dit is ex-vivo (buiten het lichaam) nog niet mogelijk. Het volledige systeem en bioreactieve vermogen van het lichaam is nog niet na te bootsen. Helaas zijn daarom dierproeven onvermijdelijk. In onze studie testen we de hartklep door de eigen longhartklep te vervangen in schapen door de scaffold. Hiermee kunnen we meerdere vraagstellingen beantwoorden, zoals de duurzaamheid, weefselgroei en functie van deze “tissue engineered” hartklep.

Titel studie: De rol van LAIR-1 in chemische alveolitis

DEC nummer: 2014.II.12.089

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 studie willen we, gebruik makend van een niet-infectieus long 'ontstekings-model', aantonen dat net als bij een RSV infectie, de remmende receptor LAIR-1 de stroom witte bloedcellen vanuit het bloed naar de ontstoken longen reguleert. Globale aanpak vraagstelling: In muizen met en zonder LAIR receptor zal een chemische longontsteking opgewekt worden. Vier uur later zullen de dieren worden geëuthanaseerd om de mate van ontsteking en LAIR-1 activatie en migratie te bestuderen. Hiervoor zal 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 longen. Deze studies

kunnen door de complexiteit van de immuunrespons in bovengenoemde ziektebeelden niet zonder diermodellen verricht worden.

Titel studie: The absence of CCR5 signalling; the effect on memory CD4 and CD8 T cell turnover and T cell count

DEC nummer: 2014.II.12.090

Bestudering van het effect van de afwezigheid van CCR5 signalering op CD4 en CD8 T cel turnover

Achtergrond: HIV dood T cellen, hiervoor gaat het met behulp van de CCR5 receptor de CD4 T cellen binnen. Het blokkeren van de CCR5 receptor met medicijnen wordt gebruik om de HIV replicatie te remmen, het T cel verlies te voorkomen en de ziekte tot stilstand te brengen. Op basis van in vitro studies, is gesuggereerd dat de normale functie van CCR5 het reguleren van cel deling en dood is. En inderdaad, in onze studie waar we de T cel turnover hebben gemeten in HIV patiënten behandeld met de CCR5 remmer maraviroc was deze verlaagd, vergeleken met de turnover in patiënten die niet met maraviroc behandeld waren.

Doel/hypothese: De afwezigheid van CCR5 signalering zal de T cel turnover veranderen, maar de aantallen gelijk laten.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie, zullen we de turnover van T cellen bepalen in muizen waarin met behulp van medicijnen of genetische manipulatie geen CCR5 signalering plaats vindt en deze vergelijken met de turnover van T cellen in wildtype muizen. De turnover wordt bepaald door het toedienen van gedeuteerd

water een traceerbare niet toxische, niet radioactieve vorm van water, welke wordt ingebouwd in het DNA van delende cellen.

Titel studie: Echo guided cardiac injection as delivery method of therapeutic stem cell therapy for chronic heart failure

DEC nummer: 2014.II.12.091

Stamcel therapie voor chronisch hartfalen

Achtergrond: Door nieuwe technieken en therapieën overleven veel mensen een hartinfarct, maar helaas heeft het hart toch schade opgelopen. Het nog gezonde deel van het hart moet hierdoor harder werken om dezelfde hoeveelheid bloed rond te pompen. In eerste instantie kan het gezonde hartweefsel het verlies aan hartcellen compenseren, maar uiteindelijk raakt het hart uitgeput. Dit wordt hartfalen genoemd. De schade die het hart heeft opgelopen als gevolg van het hartinfarct moet daarom worden teruggedraaid. Aangezien hartcellen zelf niet delen om het verlies aan hartweefsel op te vangen, proberen onderzoekers het hart te repareren door middel van stamcel therapie, waarbij de stamcellen nieuw en gezond hartspierweefsel moeten vormen of waarbij stamcellen het hart zelf aanzetten om verbetering tot stand te brengen. Uit onderzoek is gebleken dat transplantatie van stamcellen een positief effect hebben op het hart. Verder is gebleken dat stamcellen blaasjes (exosomen) produceren en dat deze exosomen ook een positief effect hebben op het hart. Stamceltherapie voor hartfalen is tot nu toe nog onderbelicht en er is nog veel ruimte voor verbetering. Wij willen nu bestuderen of

deze stamcellen en de exosomen die ze produceren een gunstig effect hebben op de functie van het hart en of ze littekenweefsel kunnen verminderen.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om de potentiële gunstige effecten van stamceltherapie in chronisch hartfalen te testen. Naast het gebruik van stamcellen zullen we ook de stamcel exosomen en een fibrose-remmer meenemen als therapie voor chronisch hartfalen. We verwachten dat zowel stamcellen en exosomen de functie van het hart zullen verbeteren. We verwachten dat een belangrijke oorzaak van dit effect is dat ze de littekenvorming van het hart zullen verminderen, wat ook getest zal worden met een specifieke fibrose remmer. Op deze manier denken we een therapeutisch diermodel in handen te hebben die zal bijdragen aan de verbetering van stamceltherapie voor chronisch hartfalen.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt er bij de muizen een hartinfarct gecreëerd waardoor de functie van het hart verminderd wordt en er in verloop van tijd een situatie optreedt van chronisch hartfalen. In dit model wordt er gekeken naar het verwachte gunstige effect van stamceltherapie (stamcellen, stamcel exosomen, specifieke fibrose remmer). De kennis die hiermee verzameld wordt is van groot belang voor het verbeteren van de huidige stamcel therapieën met als uiteindelijke doel om de hartfunctie en kwaliteit van leven voor patiënten met chronisch hartfalen te verbeteren. Het gebruik van proefdieren is nodig voor dit onderzoek, omdat hartfalen een complex proces is welke niet na te bootsen is in in-vitro kweekmodellen.

Titel studie: Onderzoek naar het effect van een selectieve LCK kinase remmer, NTRC 0652-0, op de ontwikkeling van chronische darmontsteking

DEC nummer: 2014.II.12.092

Onderzoek naar het effect van een selectieve tyrosine kinase remmer op de ontwikkeling van chronische darmontsteking

Achtergrond: De darmontstekingsziekten, zoals colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn, worden gekenmerkt door weefselschade in de darm. Deze ziekten worden gekenmerkt door de infiltratie van ontstekingscellen. Van die ontstekingscellen is aangetoond dat de T cellen (T lymfocyten) een belangrijke rol spelen. T cellen kunnen een ontstekingsreactie veroorzaken door een foute reactie op de darmbacteriën. LCK (lymphocyte-specific protein tyrosine kinase) is een eiwit in een bepaalde groep witte bloedcellen, namelijk de T lymfocyten, die een belangrijke rol spelen bij chronische ontsteking. LCK speelt een belangrijke rol bij de activering van T lymfocyten. Dus remming van LCK zal resulteren in verminderde activatie van T lymfocyten en remming van chronische ontsteking. Dit is ook aangetoond in diermodellen voor reuma.

Doel/hypothese: De hypothese is dat we met behulp van het toedienen van een LCK remmer dosis afhankelijk de klachten van darmziekten kunnen remmen.

Globale aanpak vraagstelling: Chronisch inflammatoire darmziekten brengen 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. In dit project wordt het (dosis-afhankelijke) effect van het oraal toedienen van de LCK remmer onderzocht in chronische darmontstekingen, ontstekingsstoffen, groei en stoelgang in een muismodel dat kenmerken vertoont van inflammatoire darmziekten. 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 een laag gehalte Dextraan Sulfaat Sodium (DSS), minimaal gewichtsverlies (veelal slechts op de 2 laatste dagen) en milde ontstekingen in de darm. De reden om twee cycli te doen is omdat we in voorgaande studies hebben aangetoond dat op deze manier er T cel afhankelijke ontsteking ontstaat. 1dag voor de tweede cyclus van toediening van drinkwater met DSS worden de dieren al dan niet dagelijks oraal behandeld met verschillende doseringen LCK remmers. We noteren iedere dag het gewicht en de hardheid en bloederigheid van de ontlasting. Na 6 dagen worden de dieren gedood en isoleren we bloed, de darm en verder andere relevante weefsels en organen. We willen in deze studie de aantallen dieren zo klein 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 LCK remmer behandelde groepen verminderd worden. Deze effecten bij elkaar, opgewogen tegen het belang van noodzakelijke medica-

tie voor de mens met chronisch inflammatoire darmziekten 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: De effecten van het haptoglobine polymorfisme op averechts remodeleren van het hart na chronische ischemie

DEC nummer: 2014.II.12.094

De effecten van het type haptoglobine eiwit op schade na een hartinfarct

Achtergrond: Haptoglobine is een eiwit wat in verschillende vormen kan voorkomen bij de mens. Bekend is dat patiënten met type 2-2 haptoglobine meer schade aan het hart hebben na een hartinfarct dan patiënten die het type 1-1 bezitten. Waarom dit zo is, is echter onduidelijk. Uit eerdere studies uitgevoerd door ons lab is gebleken dat bij muizen die het haptoglobine eiwit niet bezitten er meer bloedingen ontstaan in de hartwand en dat er een minder stevig litteken ontstaat na een hartinfarct. Onduidelijk is of dit ook het geval is bij muizen met het type 2-2 haptoglobine.

Doel/hypothese: Binnen dit onderzoek bekijken wij of muizen met het haptoglobine 2-2 eiwit inderdaad een minder stevig litteken hebben na een hartinfarct met meer bloedingen in de hartwand. Wij verwachten dat hierdoor de dieren met het 2-2 eiwit een slechter functionerend hart hebben in vergelijking met de dieren met het type 1-1 eiwit na een hartinfarct. Het doel van de

studie is in de toekomst patiënten met het 2-2 eiwit beter en gericht te kunnen behandelen tegen de schade die optreedt na een hartinfarct.

Globale aanpak vraagstelling: Wij zullen twee type muizen gebruiken voor deze studie, namelijk muizen met het 1-1 eiwit en muizen met het 2-2 haptoglobine eiwit. Helaas is het voor deze studie noodzakelijk dat deze dieren gebruikt worden om de werkelijkheid bij de mens zo goed mogelijk te benaderen. Het is essentieel dat het mechanisme van schade na een hartinfarct opgehelderd wordt om in de toekomst nieuwe therapieën voor patiënten te kunnen ontwikkelen. In deze studie zullen de muizen een hartinfarct doormaken waarna wij het hart van de twee groepen zullen bestuderen. Wij zullen de hartfunctie na een hartinfarct vergelijken en ook het weefsel bestuderen om het mechanisme te achterhalen van de geobserveerde verschillen.

Titel studie: Kunnen de ontwikkelde antilichamen de kans op trombose vorming verminderen?

DEC nummer: 2014.II.12.096

Kunnen de ontwikkelde antilichamen de kans op trombose vorming verminderen?

Achtergrond: Het antifosfolipiden syndroom is een aandoening waarbij het lichaam reageert op lichaamseigen stoffen (auto-immuunziekte) door de aanmaak van autoantistoffen. In dit geval reageert het lichaam op het bloedeiwit beta2-glycoproteïne I. Door de binding van autoantistoffen verandert beta2-glycoproteïne I van vorm en zorgt het voor meer kans op trombose.

Doel/hypothese: Antilichamen tegen beta2-glycoproteïne I veroorzaken een tromboseneiging. Muizen ontwikkelen autoantistoffen tegen het lichaamseigen beta2glycoproteïne I als ze worden ingespoten met fosfolipiden. De aanwezigheid van deze autoantistoffen leidt tot een snellere tijd tot afsluiting van het bloedvat in dit model. Wij hebben blokkerende antilichamen ontwikkeld tegen beta2-glycoproteïne I en de hypothese is dat deze blokkerende ontwikkelde antilichamen ervoor zorgen dat er minder kans is op trombus vorming doordat ze binden op dezelfde plek aan beta2-glycoproteïne I als de autoantistoffen.

Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek zullen we muizen 6 achtereenvolgende keren met een interval van 4 weken injecteren met twee verschillende componenten: fosfolipiden of buffer. De fosfolipiden zullen een verandering in de vorm van beta2-glycoproteïne I veroorzaken, waarna er autoantistoffen tegen dit eiwit worden gevormd. Dit gebeurt niet in de muizen die buffer krijgen ingespoten. Hierna wordt onderzocht of de beta2-glycoproteïne I autoantistoffen die ontstaan door injectie van fosfolipiden leiden tot een verhoogde kans op trombose. Dit zal worden vastgesteld door bij muizen een prikkel (ijzerchloride oplossing) die de kans op trombose verhoogd aan te brengen op de halsslagader van de muis. Vervolgens wordt met een sonde de doorstroming van het bloedvat gemeten, waardoor de tijd tot afsluiting van het vat door trombus vorming kan worden bepaald. Een verkorting van de tijd tot afsluiting van het vat, is een aanwijzing voor een verhoogd risico op trombose. Een deel van zowel de geïmmuniseerde muizen als de controle muizen zal kort voor wordt gekeken naar trombus vor-

ming worden ingespoten met de blokkerende ontwikkelde antilichamen. Hierbij wordt gekeken of deze blokkerende ontwikkelde antilichamen de afsluiting van het vat kunnen voorkomen. 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 naar ons inzien onontbeerlijk.

Titel studie: De rol van de GDF-15 in de ontwikkeling van hartfalen na TAC

DEC nummer: 2014.II.12.097

De rol van T cellen in diastolisch hartfalen

Achtergrond: Hartfalen kenmerkt zich door een verminderde functionaliteit van het hart. Hartfalen ontstaat onder andere na het doormaken van een hartaanval, waarna het hart een verminderde pompfunctie heeft doordat een gedeelte van het hartweefsel is afgestorven. Een groot aantal patiënten met hartfalen heeft echter geen voorafgaande hartaanval en het hart heeft een normaal pompvolume, maar de pompkracht is toch afgenomen. Dit wordt ook wel diastolisch hartfalen genoemd. De ontwikkeling van hartfalen wordt gekenmerkt door een proces van ongunstig remodeleren van het hart. Belangrijke onderdelen hiervan zijn ontsteking en littekenvorming wat uiteindelijk zorgt voor een verminderde functie. Hoewel algemeen geaccepteerd is dat ontsteking een groot aandeel heeft in het ontstaan van hartfalen is er nog veel onduidelijk hoe dit ontstekingsmechanisme precies werkt. Het aantal circulerende helper T cellen, evenals hun activatie status, zijn geassocieerd met het

ontstaan van hartfalen. In onze eigen experimenten observeren we, zowel bij initiatie als progressie, een persistente aanwezigheid van T cellen in het aangedane hartweefsel.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is de rol van specifieke T cel subtypen te bestuderen tijdens de ontwikkeling van hartfalen.

Globale aanpak vraagstelling: In muizen zal hartfalen geïnduceerd worden door een lichte vernauwing in de aortaboog aan te brengen. Door deze vernauwing ontstaat er verhoogde druk op het hart doordat het bloed niet soepel weg kan stromen. Deze volume overbelading zorgt voor schade aan de hartspier waardoor er veralking van de hartspier ontstaat en er ook tekenen van ontsteking aanwezig zijn. Bij aanvang van het experiment wordt van alle dieren de hartfunctie vastgesteld aan de hand van echometingen, daarnaast zal er op verschillende tijdstippen na het aanbrengen van de aortavernauwing opnieuw een hartfunctie meting verricht worden. Naast de bepaling op hartfunctie zal er bestudeerd worden welke CD4 Thelper subsets (Th1, Th2, Th17 en Treg) aanwezig zijn in het aangedane myocardium en wat hun activatie status is. Het T cel profiel in het hart zal geassocieerd worden aan functie van het hart (zoals bepaald met echo), en aan het T cel profiel dat gevonden wordt in het bloed en de lymfoïde organen. Gezien de complexiteit van het ziektebeeld, waarin we tegelijkertijd metingen willen verrichten aan het volledige hart, alsook aan verschillende celtypen (waaronder hartspiercellen en ontstekingscellen) die daarin een rol spelen is het onmogelijk de situatie na te bootsen in een kweekschaaltje. Hierdoor is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: De rol van de GDF-15 in de ontwikkeling van hartfalen na TAC

DEC nummer: 2014.II.12.098

De rol van de GDF-15 in de ontwikkeling van diastolisch hartfalen

Achtergrond: Hartfalen kenmerkt zich door een verminderde functionaliteit van het hart. Hartfalen ontstaat onder andere na het doormaken van een hartaanval, waarna het hart een verminderde pompfunctie heeft doordat een gedeelte van het hartweefsel is afgestorven. Een groot aantal patiënten met hartfalen heeft echter geen voorafgaande hartaanval en het hart heeft een normaal pompvolume, maar de pompkracht is toch afgenomen. Dit wordt ook wel diastolisch hartfalen genoemd. GDF-15 is een ontstekings eiwit dat aanwezig is in bijna alle organen. Verhoogde GDF-15 waarden in bloed voorstellen het ontstaan van hartfalen en kan ook specifiek het onderscheid aangeven tussen diastolisch hartfalen en hartfalen ten gevolge van een infarct. Dit gegeven roept de vraag op of we remming van GDF-15 kunnen gebruiken als therapie voor diastolisch hartfalen. Voordat we hierin stappen kunnen maken dienen we eerst vast te stellen of GDF-15 een directe rol speelt in de ontwikkeling van diastolisch hartfalen.

Doel/hypothese: Vaststellen van de rol van het ontstekings eiwit GDF-15 in het ontstaan van diastolisch hartfalen.

Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van GDF-15 in het ontstaan van diastolisch hartfalen vast te stellen wordt er gebruik gemaakt van GDF-15 deficiënte muizen. Door een gen-mutatie maken deze muizen geen GDF-

15 meer. In deze muizen, en hun wildtype controles, zal hartfalen geïnduceerd worden door een lichte vernauwing in de aortaboog aan te brengen. Door deze vernauwing ontstaat er verhoogde druk op het hart doordat het bloed niet soepel weg kan stromen. Deze volume overbelading zorgt voor schade aan de hartspier waardoor er verkalking van de hartspier ontstaat en er ook tekenen van ontsteking aanwezig zijn. Bij aanvang van het experiment wordt van alle dieren de hartfunctie vastgesteld aan de hand van echo metingen, daarnaast zal er op verschillende tijdstippen na het aanbrengen van de aortavernauwing opnieuw een hartfunctie meting verricht worden. Naast de bepaling op hartfunctie zal er ook bestudeerd worden hoe de afwezigheid van GDF-15 de vorming van littekenweefsel en het ontstaan van de ontstekingsreactie beïnvloedt. Gezien de complexiteit van het ziektebeeld, waarin we tegelijkertijd metingen willen verrichten aan het volledige hart, alsook aan verschillende celtypen (waaronder hartspiercellen en ontstekingscellen) die daarin een rol spelen is het onmogelijk de situatie na te bootsen in een kweekschaaftje. Hierdoor is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: Optimization of the efficacy of antigen-expressing immuno-stimulatory dextran nanogels as vaccine against cancer

DEC nummer: 2014.II.12.099

Het effect van nieuwe nanogelen als profylactische en therapeutische vaccins tegen kanker

Achtergrond: Nanogelen zijn hydrogelen bestaande uit netwerken van dextraanketens met een grootte van

100-300 nm. (Nano)hydrogelen worden op dit moment toegepast als onderhuidse opslag depots voor langzame en gecontroleerde afgifte van eiwitten of peptide. Nu hebben de nanogelen hun weg gevonden naar meerdere applicaties in het dagelijkse leven, maar ook in de nieuwe te ontwikkelen medicijnen en applicaties zoals transplanten voor kraakbeen in de knie. In ons onderzoek hebben we een nieuwe formulatie van nanogel ontwikkeld, waarbij antigenen worden “gevangen” in de nanogelen om zo een betere opname en antigeen processing door antigeen-presenterende cellen te bewerkstelligen. Deze antigeen-bevattende nanogelen willen we gaan testen als vaccin tegen kanker. In vitro resultaten zijn positief en nu willen we in vivo bewijs leveren dat onze hydrogel straks als vaccin kan worden gebruikt tegen een bepaalde vorm van kanker.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het effect te bestuderen van ons vaccin op de antitumor respons na profylactisch of therapeutische vaccinatie.

Globale aanpak vraagstelling: Met dit onderzoek willen we ons vaccin gebaseerd op onze hydrogelen testen door twee methoden te gebruiken. De ene methode is de profylactische vaccin methode en de andere de therapeutische methode. Bij de profylactische methode testen we of ons vaccin bescherming geeft tegen tumor ontwikkeling, aangezien je eerst twee keer vaccineert en dan pas de tumor cellen subcutaan inspuit. Bij de therapeutische vaccinatie kijken we of ons vaccin helpt tegen tumor ontwikkeling nadat eerst de tumor cellen zijn ingespoten en daarna pas twee keer is gevaccineerd. Hierdoor kunnen we bepalen hoe potent onze vaccin is door de tumorgrootte in de tijd te meten. Gezien het feit dat de effectiviteit van een vac-

cin alleen getest kan worden in organismen met een actief immuunsysteem, zijn in dit geval proefdieren (muizen) noodzakelijk.

Titel studie: Effects of tolerogenic peptides and prebiotics, probiotics and/or synbiotics on cow's milk allergy prevention

DEC nummer: 2014.II.12.100

Effecten van kleine eiwitfragmenten en prebiotische/probiotische/synbiotische diëten op de preventieve behandeling van koemelkallergie

Achtergrond: Eerdere studies hebben laten zien dat preventieve (voordat de dieren allergisch 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. Verder is er een mogelijkheid om de dosering van de fragmenten nodig voor tolerantie inductie te verlagen door met een prebiotisch/probiotisch/synbiotisch dieet te combineren. Op deze manier wordt het effect van tolerantie inductie met kleine eiwitfragmenten versterkt. Prebiotica zijn niet-verteerbare vezels (oligosachariden) die worden toegevoegd aan formula melk. Net als humane melk oligosachariden zijn ze belangrijk voor de opbouw van de darmflora. Recent is het aangetoond dat een dieet met deze oligosachariden, koemelkallergie symptomen deels kan voorkomen. Bovendien is het gebleken dat het de effectiviteit van tolerantie inductie, met behulp van enzymatisch geknipt koemelk eiwit, verbetert. Verder zijn probiotische bacteriën aangetoond

dat ze in combinatie met prebiotica in een dieet de koemelkallergie symptomen in een muismodel nog sterker 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 onderzoeken of de dosering van kleine eiwitfragmenten voor tolerantie inductie verlaagd kan worden door een synbiotisch dieet. Verder is het doel om meer kleine eiwitfragmenten te testen en die te combineren met een prebiotisch, probiotisch of synbiotisch (combinatie van pre- en probiotica) dieet 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 muis model getest. Hiervoor worden de dieren eerst met de fragmenten behandeld en daarna allergisch gemaakt voor koemelk. Tijdens de behandelingsperiode staan de dieren op controle of een specifiek dieet met prebiotica, probiotica of synbiotica. Tijdens inductie van allergie tegen koemelk staan alle dieren op 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 verder onderzoeken wat onmogelijk is in de mens.

Titel studie: Diet and aortic vascular graft matrix material influence on macrophage polarisation in ApoE knock-out mice

DEC nummer: 2014.II.12.101

De invloed van matrix materialen in aorta vasculaire implantatie op de soorten macrofagen in een atherosclerotisch muis model

Achtergrond: In de Westerse wereld is vaatwandvernauwing als gevolg van aderverkalking in de aorta (lichaamsslagader) de meest voorkomende aandoening van de hartkleppen. Niet alleen de vergrijzing maar ook een toename in het aantal aandoeningen per patiënt als gevolg van verbeterende gezondheidszorg dragen bij aan een toenemend aantal patiënten waarbij de hartklep uiteindelijk vervangen moet worden. Weefseltechnologie (tissue engineering) is een veelbelovend veld waarbij uiteindelijk in één stap met behulp van een synthetisch materiaal in de vorm van een hartklep, de klep vervangen zou moeten worden. Cellen die in het bloed zitten, kunnen aan de synthetische klep hechten en zo langzamerhand de biologische functie overnemen. Tijdens dit proces wordt het synthetisch materiaal langzaam afgebroken. Omdat er op de klep levende cellen komen te zitten, is deze techniek ook een goed alternatief voor jongere patiënten, waarin de hartklep nog moet groeien. Helaas is tot op heden nog weinig bekend over de invloed van verschillende synthetische materialen op hoe cellen uit het bloed hechten aan het materiaal en zelf de functie van de klep overnemen. Daarnaast hebben veel patiënten ook nog onderliggende aandoeningen, zoals aderverkalking. Deze aandoeningen hebben potenti-

eel ook invloed op de functie van cellen uit het bloed. Vooral een specifieke cel die onderdeel uitmaakt van het immuunsysteem, de macrofaag, zou een belangrijke rol kunnen spelen in het helingsproces. Verschillende typen macrofagen zouden invloed kunnen uitoefenen op het helingsproces en zouden door het type synthetisch materiaal en door aandoeningen van de patiënt, beïnvloed kunnen worden.

Doel/hypothese: Het doel van de studie is om twee synthetische materialen te vergelijken en te bestuderen welke invloed de materialen hebben op het type macrofaag wat aan het materiaal hecht. Daarnaast wordt gekeken of aderverkalking van invloed is op het type macrofaag wat zich aan het materiaal hecht. Er wordt verondersteld dat aderverkalking zal zorgen voor een grotere populatie van macrofagen die belangrijk zijn in het ontstekingsproces. Op langere termijn zou dit nadelige gevolgen kunnen hebben voor de heling en de functie. De geteste materialen zullen onder andere verschillen in hoe snel zij door het lichaam afgebroken worden en kunnen daarmee ook invloed uitoefenen op het ontstekingsproces.

Globale aanpak vraagstelling: Om deze vragen te beantwoorden zal in deze studie gebruik worden gemaakt van een muismodel dat ernstige aderverkalking ontwikkelt wanneer een dieet gegeven wordt met hoog cholesterol. Door het gebruik van proefdieren kan gekeken worden naar cellen die uit het bloed en het beenmerg in het materiaal gaan zitten en wordt de menselijke situatie van aderverkalking zo goed mogelijk benaderd. Vanwege een complexe situatie die zorgt voor vorming van aderverkalking zijn er momenteel geen alternatieven voorhanden die het gebruik van proefdieren onnodig maken.

Daarnaast geven cellen in het bloed over tijd signalen af aan het beenmerg om nieuwe cellen aan te maken, die vervolgens ook aan het materiaal kunnen hechten. Door de snelle stroming van het bloed over het materiaal in de proefdieren, wordt de menselijke situatie goed benaderd. De signalen naar het beenmerg toe zouden ook kunnen veranderen door aderverkalking, waardoor het type van macrofagen verschilt van die van dieren die een normaal dieet te eten krijgen. Nadat de materialen in de aorta geplaatst zijn bij verschillende groepen muizen, wordt ongeveer 2 weken gewacht. In deze tijd kunnen er veel cellen aan het materiaal hechten. Na deze proeftijd wordt het materiaal weer verwijderd uit de aorta en worden de verschillende groepen muizen vergeleken. Er zal globaal worden gekeken naar welke cellen er gehecht zijn aan de verschillende materialen, hoe zij zich georganiseerd hebben bij de materialen en in aderverkalking en welke type macrofagen er in dat geval aanwezig zijn.

Titel studie: De rol van C5aR in het averechts remodeleren van het hart door hoge bloeddruk

DEC nummer: 2014.II.12.102

Rol van C5aR-eiwit in de ontwikkeling van hartfalen

Achtergrond: De ontwikkeling van hartfalen wordt gekenmerkt door een proces van ongunstig remodeleren van het hart. Onderdelen hiervan zijn ontsteking en littekenvorming wat uiteindelijk zorgt voor een verminderde functie. Het complement systeem, als onderdeel van het aangeboren afweersysteem, is onder andere betrokken bij ontstekingsreacties. C5a, het meest potente ontste-

kingseindproduct van het complement systeem, is betrokken bij acute schade na een hartaanval. C5a kan binden aan de C5a receptor (C5aR). Uit een recente studie uitgevoerd door ons lab is gebleken dat muizen die geen C5aR kunnen aanmaken een betere hartfunctie hebben na een hartaanval. Het bleek dat naast ontsteking er ook effecten waren op littekenvorming in het hart. Bij hoge bloeddruk is littekenvorming een van de belangrijkste aspecten dat leidt tot hartfalen. Omdat C5aR betrokken is bij littekenvorming in een hartaanval model en in andere organen bij littekenvorming denken we dat C5aR ook een belangrijke rol speelt bij ongunstig remodeleren van het hart door een verhoogde druk in het hart.

Doel/hypothese: Het doel is om het mechanisme van C5aR op de ontwikkeling van littekenweefsel in het hart door hoge bloeddruk te achterhalen. Verder willen we onderzoeken wat het effect is van C5aR op de functie van de cellen die littekens veroorzaken. De hypothese is dat afwezigheid van C5aR zorgt voor een vermindering in littekenweefsel en een verbeterde hartfunctie in hoge bloeddruk hartfalen.

Globale aanpak vraagstelling: We maken gebruik van muizen die wel en geen C5aR kunnen aanmaken. Zo-doende kunnen we het effect van C5aR op hartschade specifiek bestuderen. Helaas is het gebruik van proefdieren onontkoombaar. De ontwikkeling van hartfalen en het proces door hoge bloeddruk 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 in de werkelijkheid er meer dan 8 cellen betrokken zijn bij de ontwikkeling van

hartfalen en het effect van hoge bloeddruk op het hart. 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 onze experimenten ondergaan de muizen een verhoogde bloeddruk op het hart. Hierdoor ontstaat na een tijd schade aan het hart die op den duur tot hartfalen leidt. We zullen het ontwikkelen van hartfalen bestuderen in muizen met en zonder het eiwit C5aR. Verder zullen we het effect van C5aR in speciale litteken producerende cellen uit het hart bestuderen om zo het werkingsmechanisme van C5aR te ontrafelen.

Titel studie: The Grail

DEC nummer: 2014.II.12.103

The Grail

Achtergrond: Perifeer vaatlijden, bijvoorbeeld in de benen, is een veel voorkomende ziekte, waarbij vaatverkalkingen en vernauwingen zorgen voor een verminderde bloedstroom naar de benen, wat kan lijden tot pijn tijdens bewegen, pijn in rust of niet helende wonden aan de voeten of benen. Perifeer vaatlijden heeft een enorme impact op de mobiliteit en kwaliteit van leven van een patiënt. Tevens hebben deze patiënten meer risico op het krijgen van hartinfarcten, beroertes of amputatie van een ledemaat. Deze studie wil een nieuwe manier van behandelen van vaatverkalking onderzoeken, waarbij gebruik wordt gemaakt van een gefabriceerde binnenlaag van het vat, die over een beschadigde vaatwand kan worden gelegd (na het verwijderen van de vaatverkal-

king). Deze laag zal lokaal het genezingsproces van de vaatwand bevorderen.

Doel/hypothese: Het doel is het onderzoeken van een nieuw model van vaatschade bij varkens. Vervolgens zal de nieuwe gefabriceerde binnenlaag van de vaatwand worden onderzocht op de beschadigde vaten. Met als doel uiteindelijk deze behandeling toe te kunnen passen bij patiënten.

Globale aanpak vraagstelling: Het eerste onderdeel van het onderzoek (1a en 1b) zullen we via het vat schade toebrengen in de slagaderen van het been van het varken. Hierbij willen we onderzoeken of dit goed werkt en of hierna een vernauwing van het vat optreedt. Onderdeel 2 van het onderzoek gaan we via de slagaderen van de benen wederom schade toebrengen, gevolgd door het plaatsen van een gefabriceerde binnenlaag, die over de vaatwand kan worden gelegd. Vervolgens willen we op verschillende termijnen bestuderen hoe het beschadigde vat reageert op de gefabriceerde binnenlaag die we hebben geplaatst en of het de genezing bevordert. Dit kan helaas alleen door middel van dierproeven. De stoffen en materialen zijn allemaal al buiten dieren getest, maar het meest overeenkomende met de mens zijn tot op heden nog dieren. Bij vaten is dat specifiek het varken. Vanwege deze reden hebben wij gekozen het onderzoek op varkens te verrichten.

Titel studie: Circadian rhythms in neovascularization after myocardial infarction

DEC nummer: 2014.II.12.104

Circadiane ritmes in neovascularisatie na myocardinfarct

Achtergrond: Dag-nachtritmes spelen een belangrijke rol in het hart. Bloeddruk, hartslag, maar ook genen van het hart hebben een 24-uurs ritme (circadiaan ritme). Alle cellen in het lichaam, inclusief hartcellen, hebben een eigen dag-nachtritme. Welke invloed hartschade heeft op deze ritmes is onduidelijk.

Doel/hypothese: Hartfalen is nog moeilijk te behandelen.

Aangezien circadiane ritmes belangrijk lijken te zijn in hartschade, willen wij onderzoek doen naar circadiane ritmes in cellen van het bloed omdat ze verantwoordelijk zijn voor de formatie van nieuwe bloedvaten in het beschadigde hart. Deze nieuwe vaten zijn belangrijk voor de bescherming van het hart en om schade te verminderen. Met de gegevens uit deze proef, zullen we een plan maken om de circadiane ritmes zo goed mogelijk te gebruiken, voor bijvoorbeeld therapie bij hartfalen.

Globale aanpak vraagstelling: In dit experiment willen we bij muizen een hartaanval (hartschade) induceren op vier verschillend tijden (dag en nacht; elke ~6 uur). 3 Uur na de operatie, willen wij in het bloed kijken of circadiane ritmes een invloed hebben op de activatie van cellen die het bloedvat vormen en hartschade beperken. Voor dit experiment zijn proefdieren helaas noodzakelijk. In onderzoek op cellen is aangetoond dat dag-nachtritmes van groot belang zijn voor het hart. Bij een hartinfarct, maar ook circadiane ritmes in het lichaam, spelen vele complexe bekende en onbekende processen een rol. Om

het effect van dag-nachtritmes op hartschade te onderzoeken moet er daarom helaas gebruik gemaakt worden van een 'echt' hartinfarct.

Titel studie: Are MSCs obtained from patients with CKD impaired in their regenerative potential, compared to controls?

DEC nummer: 2014.II.12.105

Doen stamcellen van patiënten met nierziekte het even goed als stamcellen van gezonde mensen

Achtergrond: Stamcellen worden tegenwoordig veel onderzocht als mogelijke therapie voor ziektes die voorheen niet te genezen waren. Er is in diermodellen al veel succes geboekt met stamcellen. In een eerdere studie hebben we echter laten zien dat stamcellen van zieke mensen en dieren het een stuk minder goed doen dan gezonde stamcellen. Om een afstoting van het lichaam te voorkomen is het echter belangrijk dat een patiënt met zijn eigen stamcellen behandeld wordt. De stamcellen in deze studie, Mesenchymale Stromale Cellen of MSCs, worden een tijd buiten het lichaam gekweekt. We hebben aanwijzingen dat dit ervoor zorgt dat de stamcellen van zieke donoren weer net zo goed worden als stamcellen van gezonde donoren.

Doel/hypothese: Het vergelijken van MSCs van patiënten met nierziekte met MSCs van gezonde donoren.

Globale aanpak vraagstelling: In dit diermodel voor nierziektes wordt eerst nierschade bij de muis veroorzaakt; dit gebeurt door de slagaders naar de nier 25 minuten af te klemmen. De nieren krijgen hierdoor zuurstof tekort en er ontstaat op korte termijn veel schade. Een deel van

de dieren krijgt vervolgens MSCs toegediend in de hoop dat deze de schade beperken. Om de schade van de nieren (en herstel daarvan door MSCs) vast te stellen wordt er op meerdere punten na de operatie urine afgenomen waarmee de nierfunctie gemeten kan worden. Aan het einde van de proef worden de muizen geëuthanaseerd en worden de nieren onder de microscoop bekeken. We gaan eerst kijken of MSCs van gezonde donoren überhaupt werken in dit diersmodel. In andere diersmodellen doen ze het goed, en ook andere onderzoekers hebben laten zien dat ze in dit model zouden moeten werken. Daarna gaan we MSCs van patiënten met nierziekte vergelijken met MSCs van gezonde controles. De werking van stamcellen is heel complex en niet buiten het lichaam na te bootsen. We gebruiken daarom eerst een diersmodel.

Titel studie: Gender effect op effect van GOS/FOS en PUFAs op immuunrespons en gedrag in het muizenmodel voor koemelkallergie

DEC nummer: 2014.II.12.106

Gender effect op effect van GOS/FOS en PUFAs op immuunrespons en gedrag in het muizenmodel voor koemelkallergie

Achtergrond: Voedselallergie komt steeds vaker voor in de westerse landen en het is een ernstige ziekte die fatale gevolgen kan hebben. Dat voedselallergie steeds vaker voorkomt kan te maken hebben met meerdere factoren o.a. verandering in dieet. In patiënten met voedselallergie zijn de immuunresponsen ontregeld in de darmen. Deze ontregeling kan ook een verandering in

gedrag veroorzaken. Voedingscomponenten hebben een effect op allergie en ook op gedrag.

Doel/hypothese: In deze studie willen we onderzoeken of voedingscomponenten effect hebben op de neuro-immunologische- en gedragsveranderingen in koemelkallergische muizen. Ook willen we naar effect van deze voedingscomponenten kijken in niet-allergische muizen, omdat er aanwijzingen zijn, dat deze voedingscomponenten ervoor zorgen dat niet-allergische muizen minder angst en meer sociaal gedrag vertonen. Tevens willen we onderzoeken of er een geslachtverschil is in gedrag maar ook neuro-immunologisch in zowel allergische als niet-allergische muizen.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek willen we een bestaand koemelkeiwit allergisch muizenmodel gebruiken, waarin we in een vorig experiment neuro-immunologische en gedragsveranderingen hebben gevonden. In dit experiment willen we onderzoeken wat de invloed is van voedingscomponenten op deze gevonden veranderingen. De muizen worden 14 dagen op dieet gezet. Vervolgens wordt de helft allergisch gemaakt en worden er gedragstesten uitgevoerd om het effect van de diëten op gedrag in allergisch en niet-allergische muizen te bepalen. De muizen worden blootgesteld aan het koemelkeiwit waardoor er een allergische reactie ontstaat en de neuro- en immunologische veranderingen kunnen worden bestudeerd. Indien er een effect gevonden wordt van de diëten op de gevonden neuro-immunologische- en gedragsveranderingen, geeft ons dat inzicht in welke diëten mogelijk als behandeling kunnen dienen voor het verminderen van allergie en eventueel gedragsafwijkingen, en wat het werkingsmechanisme is van deze

voedingscomponenten. Het is helaas niet mogelijk deze studie uit te voeren zonder proefdieren, omdat er een complexe samenwerking tussen het maag-darm systeem, het immuunsysteem en de hersenen plaatsvindt.

Titel studie: Effects of raw milk in a mouse model for food allergy

DEC nummer: 2014.II.12.107

Rol van rauwe (niet bewerkte melk) in immuun modulatie, in het bijzonder in allergische reacties tegen voedselcomponenten

Achtergrond: Voedselallergie wordt een steeds groter probleem. De afgelopen jaren is er een voedselallergiemodel in de muis opgezet en gevalideerd in ons onderzoekscentrum. Naast immunologische metingen worden ook functionele darmveranderingen 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. Het onderzoeken van de allergie verminderende en allergie beschermende effecten van rauwe melk (niet verhit en niet bewerkt voor commercieel gebruik), geeft een groter inzicht in het onderliggende mechanisme dat kan leiden tot gerichtere dieetinterventies.

Doel/hypothese: Het ontwikkelen van specifieke therapieën gericht op het behandelen van voedselallergie. Onderzoek naar het onderliggende mechanisme van allergie d.m.v. allergisch muismodel. Dit onderzoek geeft meer

inzicht in het werkingsmechanisme van immuun module-rende componenten in rauwe melk en dit kan leiden tot een dieetinterventie.

Globale aanpak vraagstelling: Dieren worden allergisch gemaakt voor het melkeiwit whey. Na enkele weken worden de muizen opnieuw blootgesteld aan het eiwit. Onderzocht wordt of rauwe melk de allergische klachten in de muis kunnen verminderen. Complexe pathofysiologische veranderingen liggen ten grondslag aan het ontstaan van voedselallergie. Daarom hebben we het intacte dier (muis) nodig. Om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken worden er verschillende parameters in hetzelfde dier gemeten.

Titel studie: Analyse van de afgifte en functie van dendritische cel, T cel en mestcel membraanblaasjes

DEC nummer: 2014.II.12.108

Regulatie van de afweerreactie d.m.v. membraanblaasjes afkomstig van afweercellen

Achtergrond: Voor een goed gereguleerde afweerreactie is communicatie tussen verschillende typen afweercellen essentieel. Cellen kunnen met elkaar communiceren middels kleine membraanblaasjes.

Doel/hypothese: Deze studie richt zich op het ophelderen van de rol van membraanblaasjes in de communicatie tussen afweercellen die een cruciale rol spelen in de regulatie van de afweer. De resultaten zullen leiden tot een beter inzicht in de communicatie tussen afweercellen en bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën. Voor de studie van membraanblaasjes hebben

we in celkweek modelsystemen ontwikkeld. M.b.v. deze modelsystemen wordt de interactie tussen verschillende afweercellen bestudeerd. De muizen die aangevraagd zijn in deze studie zijn nodig als cel donor voor de modelsystemen waarin gebruik wordt gemaakt van (te re-stimuleren) afweercel klonen en primaire afweercellen. Globale aanpak vraagstelling: Voor de studie van membraanblaasjes hebben we celkweek modelsystemen ontwikkeld. Met behulp van deze modelsystemen wordt de interactie tussen verschillende afweercellen bestudeerd. De muizen die aangevraagd zijn in deze studie zijn nodig als cel donor voor de modelsystemen waarin gebruik wordt gemaakt van (te re-stimuleren) afweercel klonen en primaire afweercellen.

Titel studie: Is het mogelijk het microbioom van de placenta te beïnvloeden middels maternaal dieet?

DEC nummer: 2014.II.12.109

Nutricia Research Foundation subsidie- Gezondheid van de placenta

Achtergrond: De placenta is geen steriel orgaan, het is in de laatste jaren steeds duidelijker dat een foetus helemaal niet ontwikkeld in een steriele omgeving zoals eerder wel werd gedacht. Het is echter helemaal nog niet duidelijk welk effect de bacteriën die in de placenta voorkomen zouden kunnen hebben op het functioneren van de placenta, en of je er van buitenaf iets aan zou kunnen veranderen. Wat wel duidelijk is, is dat als men prebiotische vezels eet daardoor de samenstelling van de darmflora (microbiom) kan worden beïnvloed, en dat wanneer vrouwen zwanger zijn de darmwand extra door-

laatbaar is. Het zou dus mogelijk zo kunnen zijn dat men middels het eten van prebiotische vezels het microbiom van de placenta kan beïnvloeden. Omdat het functioneren van de placenta natuurlijk cruciaal is voor een goed verlopende zwangerschap is het belangrijk om erachter te komen hoe het microbiom mogelijk de placenta reguleert en of dit mogelijk te beïnvloeden is. Dit laatste is vooral van toepassing wanneer men denkt aan vrouwen waarbij de zwangerschap steeds niet goed verloopt. Doel/hypothese: We willen binnen dit experiment meten of het mogelijk is middels prebiotica de bacteriën die in de placenta aanwezig zijn te beïnvloeden, en of dit dan mogelijk weer een effect heeft op het functioneren van de placenta

Globale aanpak vraagstelling: Binnen dit experiment willen we eerst gaan kijken of we metingen kunnen verrichten aan de bacteriën in de placenta's van muizen, om zo voor het tweede deel van ons experiment een zo nauwkeurig mogelijke inschatting te kunnen doen van het aantal dieren wat nodig is. In het tweede experiment gaan we één groep zwangere muizen op een controledieet zetten en een andere groep zwangere muizen op een dieet met daaraan toegevoegd prebiotische vezels. In dat deel van het experiment hopen we veranderingen te zien in het microbiom van de placenta en dat mogelijke veranderingen in de placenta zelf (soorten cellen die hier voorkomen, stoffen die worden aangemaakt etc.) hiermee samenhangen. Dit is een zeer complex systeem en dit valt niet in vitro na te bootsen. Daarom is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: iValve 2

DEC nummer: 2014.II.12.110

iValve 2 - een hartklepprothese van intelligent materiaal

Achtergrond: Ziekten aan de hartklep komen wereldwijd veel voor. Mogelijk meer dan 850.00 patiënten hebben in 2050 een klepvervanging nodig. De huidige beschikbare klepprotheses zijn suboptimaal. Er zijn grofweg twee typen hartkleppen. De mechanische (gemaakt van een metaal soort) of biologisch (gemaakt van rund- of varkensweefsel). Het risico van de mechanische klep is het ontwikkelen van embolieën (bloedpropjes) die in de long of hersenen terecht kunnen komen en schade kunnen veroorzaken (herseninfarct of longembolie). Om dit te voorkomen moeten de patiënten met een mechanische klep levenslang antistollingsmedicijnen slikken. Deze medicatie is voor jonge vrouwen een contra-indicatie als ze nog zwanger willen worden gezien het schadelijke effect op het ongeboren kind. Het nadeel van de biologische klep is de beperkte duurzaamheid, de huidige generatie biologische hartkleppen zullen na ong. 15 jaar vervangen moeten worden. Vooral voor volwassenen en jonge kinderen met aangeboren hartafwijkingen zijn de huidige protheses niet toereikend, maar een “second best” behandeling.

Doel/hypothese: De iValve2 studie heeft als doel een hartklep te ontwikkelen die mee kan groeien en adapteren op de dynamiek van een menselijk lichaam, die bestaat uit (eigen) weefsel en makkelijk te verkrijgen is voor iedereen. De hypothese is dat het lichaam een zelf regeneratief vermogen heeft en met de juiste stimulans we de klep in het lichaam kunnen laten groeien. In onze

studie vervangen we de long hart klep voor een mal (scaffold) in de vorm van een hartklep. Deze scaffold is gemaakt van polymeren en zal in het lichaam cellen aantrekken. Deze cellen zullen vervolgens (hartklep) weefsel vormen. Tegelijkertijd zal het polymeer van de scaffold degraderen. Indien we dit in de juiste opbouw/afbraak balans kunnen sturen zal uiteindelijk eigen weefsel overblijven die gestuurd is door de hemodynamische en biologische omgeving van een menselijk lichaam. Onze hypothese is dat de natuurlijke omgeving het weefsel stimuleert te vormen tot een klep die aan de gestelde eisen zal voldoen.

Globale aanpak vraagstelling: iValve-2 borduurt voort op een vergelijkbaar eerder project (iValve1). Hierin zijn verschillende scaffolds getest. Het onderzoek van scaffolds en vasculair materiaal in iValve1 hebben geresulteerd in een hemodynamisch functionele hartklep. Deze ondersteund in situ weefselformatie en voldoet voor de longhartklep aan de norm die de ISO voor hartklepprotheses stelt. Twee type polymeer materialen (type 1 en 2) zijn veel belovend. Beide materialen hebben vergelijkbare mechanische eigenschappen en kunnen door middel van electrospinnen gefabriceerd worden. Echter hebben ze een significant verschillende biodegradatie snelheid en mechanisme. Type 1 is in vivo getest met een follow up van 6 maanden. De uitkomsten van dit materiaal waren excellent, zo liet een proof of concept zien. In het komende project willen we scaffold type 2 testen. We willen een risico analyse van deze scaffold in een schape model met een medium en lange follow-up tijd. De gekozen uitkomstmaten voor type 2 zullen de zelfde zijn als voor type 1. We verwachten dat door de huidige

ervaring in uitvoering van het studiemodel we met een gelimiteerde uitval van proefdieren genoeg in-vivo data kunnen verkrijgen. Voordat een kushartklep in mensen gebruikt kan worden zal deze op veiligheid en effectiviteit moeten worden getest. Met behulp van een diermodel worden alle afzonderlijke aspecten die in-vitro getest zijn bij elkaar gebracht. Dit is ex-vivo nog niet mogelijk. Het volledige systeem en bioreactieve vermogen van het lichaam is nog niet na te bootsen. De dierproeven voor deze preklinische fase zijn daarom onvermijdelijk.

Titel studie: Cardiologische en cardio-thoracale onderwijs projecten

DEC nummer: 2014.II.12.111

Cardiologische en cardio-thoracale onderwijs projecten

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: De cardiologische en hartchirurgische zorg wordt steeds technischer en complexer, vooral vanwege de door de patiënten gewenste minder invasieve nieuwe behandelingsmethoden. Onderwijs/vaardigheidstraining wordt gegeven door ervaren docenten voor medisch specialisten en voor ondersteunend personeel. Het leerdoel is dat (minimaal invasieve) innovatieve complexe cardiologische en cardio-thoracale behandelingstechnieken en (diagnostische) methodes met voldoende vaardigheid aangeleerd wordt om nadien veilig in de mens te kunnen worden toegepast. In geval van complicaties die kunstmatig kunnen worden veroorzaakt, kan de medisch specialist samen met het team de juiste beslissingen leren nemen.

Opzet van het onderwijslelement: De proefdieren (varken en schaap) waarvan het hart en circulatie sterk vergelijk-

baar is met die van de mens ondergaan onder volledige narcose nauwgezet dezelfde ingreep/diagnostisch onderzoek zoals die bij de patiënt zal worden toegepast. Het betreft ingrepen aan de (krans)slagaderen, kleppen, de hartspier en de longen. De (minder invasieve) omstandigheden met de te verwachten operationele problemen worden protocollair nagebootst. Nadien kan het weefsel en de ingreep (bijvoorbeeld klepprothese inhechten, de bypass) op de correctheid van toepassing worden gecontroleerd zodat de behandelaars hun werkwijze teruggekoppeld krijgen. Waar mogelijk zal voorafgaand aan het onderwijs in het proefdier training gegeven worden met een (computer)simulatie, een slachthuishart en (kunst)bloedvaten.

Foto's rechts: Standaard schapen- en varkensverblijf in het dierenlaboratorium.

Titel studie: Het effect van dieet interventies met verschillende soorten synbiotica op de RSV specifieke immuunresponse in C57BL/6 muizen

DEC nummer: 2014.II.12.112

Effecten van verschillende diëten op respiratoir syncytieel virusinfecties

Achtergrond: Het respiratoir syncytieel virus (RSV) veroorzaakt in de meeste gevallen alleen een verkoudheid. Echter in bepaalde groepen, zoals jonge kinderen, kan het virus ernstige longklachten veroorzaken. Een mogelijke verklaring voor deze klachten is een verminderde anti-virale response van T cellen (witte bloedcellen die een belangrijke rol spelen bij het onder controle brengen van virale infecties) doordat het immuunsysteem nog in ontwikkeling is. Eerdere studies hebben laten zien dat combinaties van suikergroepen en bepaalde bacteriën een positief effect hebben op het immuunsysteem en daardoor op de ontwikkeling van allergieën en vaccinatieresponses. Deze diëten hebben zowel een direct effect op het immuunsysteem als een indirect effect via de darmflora. In een eerdere studie hebben we gezien dat een verstoorde darmflora de immuunrespons tegen RSV beïnvloed en dat de combinatie van suikergroepen en bacteriën dit effect te niet doet. In deze studie willen we het effect van levende vs. dode bacteriën en verschillende soorten bacteriën onderzoeken.

Doel/hypothese: Bepalen van het effect van levende vs. dode bacteriën en verschillende soorten bacteriën op de immuunrespons tegen RSV. De verwachting is dat levende bacteriën meer effect hebben dan dode bacteriën.

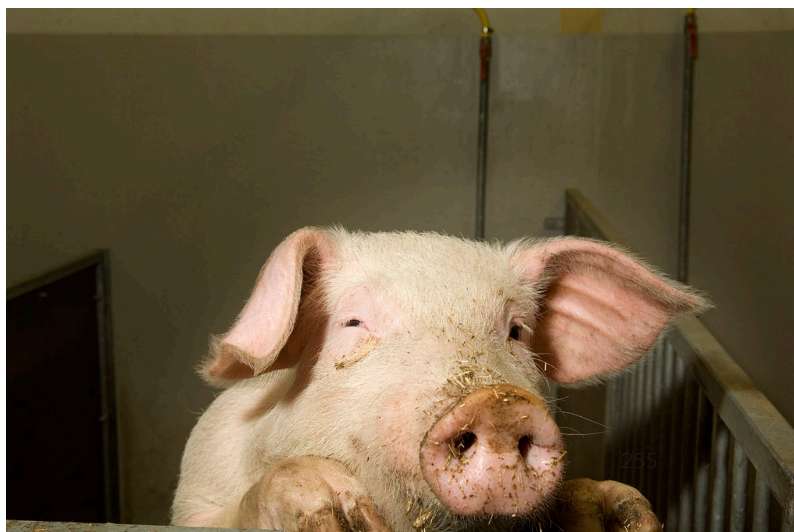
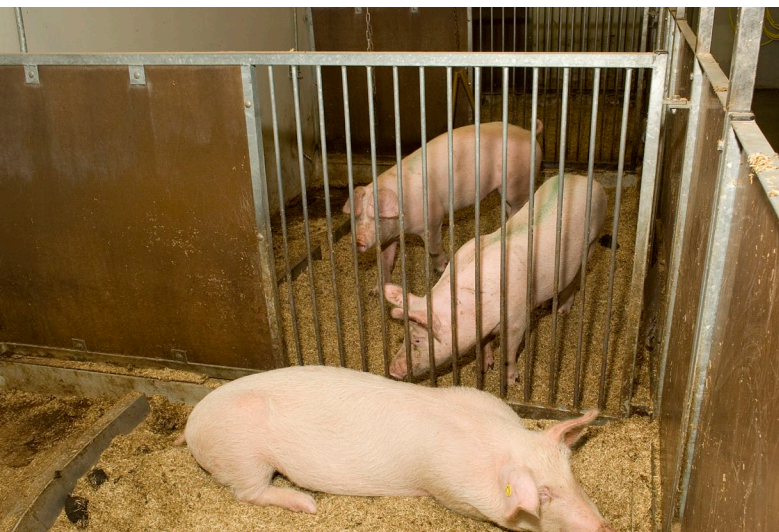
Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studie maken we gebruik van een RSV model waarin de muizen eerste gevaccineerd worden en vervolgens 5 weken later geïnfecteerd worden met RSV. Tijdens de vaccinatieperiode staan de dieren op de verschillende diëten. Een dag voor de infectie gaan alle dieren over op controle dieet. Na de infectie kijken we naar de ontwikkeling van de immuunreactie tegen het virus. We moeten deze experimenten in dieren uitvoeren omdat het complexe systeem van interactie van voeding met darmflora en de directe of indirecte effecten op het immuunsysteem onmogelijk zijn na te bootsen op het lab.

Titel studie: Het effect van pollen op RSV infectie in een Balb/c muismodel

DEC nummer: 2014.II.12.113

Het effect van pollenkorrels op RSV infectie

Achtergrond: Eerdere experimenten in het lab en in allergische patiënten hebben laten zien dat bepaalde bestanddelen (de niet-eiwitten) in pollen-korrels een effect hebben op het immuunsysteem en met name mediators remmen die een rol spelen bij het bestrijden van virussen. Onlangs hebben we in een muismodel (C57BL/6 muizen) voor respiratoir syncytieel virus (RSV) laten zien dat muizen die blootgesteld worden aan deze bestanddelen na een luchtweginfectie zieker lijken te worden dan muizen die niet blootgesteld worden aan de pollenbestanddelen. Voor het C57BL/6 muismodel was gekozen vanwege wetenschappelijke literatuur waarin beschreven wordt dat remmen van de mediators, die ook door de pollen bestanddelen geremd worden, een



effect heeft op het ziekteverloop na de luchtweginfectie. Echter, zoals eerder beschreven en wat ook uit onze studie blijkt, zijn C57BL/6 muizen niet zo gevoelig voor RSV en laten ze dus na infectie weinig symptomen zien. Doel/hypothese: In deze studie willen we een ander muismodel voor RSV infectie gebruiken. Voor deze studie worden Blab/c muizen gebruikt die gevoeliger zijn voor RSV en dus eerder symptomen zullen vertonen. We verwachten dan ook een groter effect van de pollen. Daarnaast willen we testen of het effect dosis afhankelijk is. We verwachten dat hoe hoger de concentratie hoe meer effect er te zien zal zijn. Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van pollenkorrels op luchtweginfecties te onderzoeken wordt het Balb/c muismodel voor RSV gebruikt. De muizen worden via de neus geïnfecteerd met het virus. In de eerste studie worden de muizen voor, tijdens en na deze infectie via de neus behandeld met een waterige oplossing die bepaalde bestanddelen van pollenkorrels bevat. Op dag 6 na infectie worden de muizen geëuthanaseerd. In de tweede studie worden de muizen na infectie behandeld met verschillende concentraties pollen. Een belangrijk symptoom van RSV infectie in muizen is gewichtsverlies. Daarom worden de dieren iedere dag gewogen. Verder worden de hoeveelheid virus en aantal/soort immuun cellen in de longen bepaald. De inzet van proefdieren voor deze studie is nodig omdat er veel verschillende factoren/cellen betrokken zijn bij het bestrijden van virussen. De interactie tussen deze cellen/factoren is niet in vitro na te bootsen, daarom willen we gebruik maken van een muismodel.

Titel studie: Het effect van mesenchymale precursor cellen (MPCs) en mesenchymale stamcellen (MSCs) op de stabiliteit van vulnerable atherosclerotische plaques in muizen

DEC nummer: 2014.II.12.114

Het gebruik van stamcellen bij hart en vaatziekten in een muismodel

Achtergrond: Atherosclerose (of aderverkalking) is een veel voorkomende ziekte in de Westerse wereld. Vulnerable plaques (ofwel kwetsbare plaques) zijn atherosclerotische plekken met een aantal belangrijke kenmerken waardoor de plaques makkelijk kunnen openbarsten. Deze kenmerken omvatten onder andere de aanwezigheid van een grote kern van dode cellen en vet, maar ook ontstekingscellen, gladde spiercellen en een dunne fibrotische 'cap' (toplaag) die de plaque afsluit. Als de 'cap' barst komt de inhoud van de plaque vrij en wordt deze blootgesteld aan het bloed. Als gevolg zal het bloed stollen wat een acute verstopping van het bloedvat tot gevolg heeft. Gebeurt dit in het hart, dan is er sprake van een hartinfarct.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is een therapie ontwikkelen waarmee kwetsbare aderverkalkingen minder kwetsbaar kunnen worden gemaakt en dat daardoor de kans op bijvoorbeeld een hartinfarct kleiner wordt. De hypothese is dat stamcellen de vaatwand kunnen genezen waardoor de kans op een scheur in de aderverkalking kleiner wordt en daarmee de kans op een hartinfarct.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek zal gebruik worden gemaakt van muizen als proefdier. Bij deze muizen zal aderverkalking worden opgewekt door de muizen vet voedsel te geven en door een vernauwing in een bloedvat van de muizen te maken waardoor er een verandering ontstaat in de manier waarop het bloed stroomt. Hierdoor ontstaat de verkalking in de aders van de muizen. Na 8 weken zal de verkalking gevormd zijn en dan zullen de muizen na 2 weken geëuthanaseerd worden. Hierna zal er naar de vaatwand worden gekeken om te beoordelen of de verkalking stabiel is geworden en of er minder sprake is van ontsteking van de vaatwand. Deze resultaten zullen vergeleken worden met muizen die geen behandeling met stamcellen hebben gehad.

Titel studie: Effectiviteit en retentie van injecties met mesenchymale precursor stamcellen met behulp van de BioCardia Helix catheter, Cook Medical Retrograde Sinus Coronarius infusie, BDS MyoStar injectie catheter, intraveneuze toediening en epicardiale toediening in gezonde schapen

DEC nummer: 2014.II.12.115

Vijf manieren van toedienen van stamcellen in het schapenhart: op zoek naar de meest effectieve en efficiënte manier van toediening

Achtergrond: Bij dit onderzoek zullen stamcellen op 5 verschillende manieren worden ingebracht in het hart van 25 gezonde schapen (BDS MyoStar catheter versus BioCardia Helix catheter versus Cook Medical Retrograde sinus coronarius injectie versus intraveneuze injectie

versus injectie van stamcellen direct in de hartspeer op de buitenkant van het hart). Het idee is om vast te stellen welke manier van toediening ervoor zorgt dat de stamcellen op de juiste plek terecht komen en blijven voor een optimaal behandelings-effect. De stamcellen worden gekoppeld aan een radioactief stofje waardoor met behulp van een speciale scanner zichtbaar kan worden gemaakt waar de stamcellen terecht zijn gekomen en in welke hoeveelheid.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om te bepalen welke manier van toedienen van stamcellen het beste effect heeft in het schapenhart. Wij denken dat de BioCardia catheter het beste resultaat zal geven, omdat deze over een speciale punt beschikt waarmee de cellen makkelijker in het hart kunnen worden ingespoten en moeilijker weer uit het hart kunnen wegstromen.

Globale aanpak vraagstelling: Omdat wij schapen niet kunnen nabootsen is bij deze studie de inzet van proefdieren noodzakelijk. Het is belangrijk om te zien wat er in een levend, kloppend hart gebeurt bij het inspuiten en wat het levende wezen voor invloed heeft op het achterblijven van stamcellen in het hart. Omdat er veel factoren zijn die effect kunnen hebben op de uitkomst van dit onderzoek is gebruik van proefdieren noodzakelijk. Er zullen in totaal 5 groepen van 5 gezonde schapen worden gebruikt. Deze schapen zullen onder narcose worden gebracht waarna de stamcellen worden toegediend op één van de 5 genoemde methoden. Na vier uur zullen de schapen geëuthanaseerd worden en zal in het hart en andere belangrijke organen gekeken worden naar de aanwezigheid van stamcellen.

Titel studie: Verkrijgen van erythrocyten van kippen voor uitvoering van hemagglutinatietesten

DEC nummer: 2014.II.12.117

Verkrijgen van rode bloedcellen van kippen voor uitvoering van hemagglutinatietesten

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 oppervlakte-eiwitten 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 immunrespons 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 antilichaamresponse na vaccinatie te bepalen.

Globale aanpak vraagstelling: Om de antilichaam respons na vaccinatie te meten wordt er gebruik gemaakt van de hemagglutinatietest. Hiervoor zijn rode bloedcellen nodig. Om rode bloedcellen te verkrijgen wordt er bij levende kippen enkele ml bloed getapt.

Titel studie: Veiligheid en nauwkeurigheid van optisch navigatiesysteem voor katheter en voerdraad in een acuut varken / Veiligheid en

nauwkeurigheid van een pre-operatieve CT angiografie overlay gecombineerd met een optisch navigatiesysteem voor katheters en voerdraden in een varken

DEC nummer: 2014.II.12.118

Veiligheid en nauwkeurigheid van een navigatiesysteem met optical shape sensing technologie in de aorta

Achtergrond: Een aneurysma van de buikslagader kan operatief worden behandeld. Er zijn twee mogelijkheden om dit te doen: een buikoperatie en de EVAR-procedure. EVAR staat voor EndoVasculaire Aneurysma Repair. Dit betekent dat een aneurysma van binnenuit wordt gerepareerd, zonder grote buikoperatie. Om de buisprothese te kunnen plaatsen, maken we gebruik van voerdraden en katheters. Het navigeren van de voerdraad, katheter en de buisprothese gebeurt momenteel onder geleiding van doorlichting, waarbij continue röntgenstraling wordt gebruikt. Er zijn verschillende soorten EVAR behandelingen, welke wij onderverdelen in niet-complexe EVARs en complexe EVARs. Gedurende niet-complexe EVAR gebruikt een chirurg gemiddeld 20 minuten röntgenstraling. Echter, gedurende de complexe EVARs kan dit oplopen tot gemiddeld 70 minuten per interventie, met uitschieters naar 140 tot 200 minuten. Dit heeft niet alleen gevolgen voor de patiënt, die een hoge dosis röntgenstraling ontvangt, maar ook voor de chirurg en alle medewerkers (operatieassistenten, anesthesie medewerkers, röntgentechnici etc.). Zij worden ook blootgesteld aan een zeer hoge dosis röntgenstraling tijdens deze procedure. Optical shape sensing is een geheel nieuwe technologie die het mogelijk maakt om een voerdraad, al dan niet samen

met een katheter, zichtbaar te maken zonder gebruik te maken van röntgenstraling. Er zijn al enkele van dit soort navigatiesystemen ontwikkeld met dezelfde mogelijkheden, maar deze systemen zijn beperkt tot het afbeelden van alleen de tip van de voerdraad of katheter. Daardoor zijn deze systemen niet bruikbaar in complexe EVAR procedures. Dit systeem biedt de mogelijkheid om naast de tip ook de hele vorm van de voerdraad of katheter af te beelden, hetgeen een veel bredere toepassing heeft. Deze technologie staat nog in de kinderschoenen en is in nog geen enkel medisch product geïmplementeerd. Echter heeft deze technologie wel de potentie om uit te groeien naar andere toepassingen, mits deze studie succesvol is. Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om alle preklinische onderzoeken uit te voeren welke nodig zijn voor het verkrijgen van het CE veiligheidskeurmerk. (1) Aantonen dat de nauwkeurigheid van het systeem toereikend is voor gebruik in de aorta en zijn grote zijtakken (niervaten, darmvaten). (2) Er zijn geen additio-nale risico's voor de gezondheid bij het gebruik van dit systeem. Het is veilig toepasbaar op de operatiekamer. (3) De hoeveelheid röntgenstraling kan worden vermind-erd door gebruik te maken van dit systeem. Hypothese: Optical shape sensing voerdraden en katheter zijn veilig in gebruik, zijn nauwkeurig en verminderen de intra-operatieve röntgenstraling gedurende EVAR. Globale aanpak vraagstelling: Een deel van de experimen-ten hebben we uitgevoerd op plastic modellen. Hierin kun-nen we zeer algemene testen doen, om te kunnen zien hoe goed de voerdraden werken. Daarnaast maken we veel-vuldig gebruik van anatomische torso's van mensen die hun lichaam ter beschikking hebben gesteld aan de weten-

schap. Hierdoor hebben we het aantal proefdieren kunnen halveren. In de dierstudie zullen wij testen hoe accuraat de nieuwe voerdraden zijn in een menselijke vergelijkbare omgeving en of zij veilig zijn te gebruiken in het lichaam. In de eerste studie zullen we 10 varkens gebruiken voor de harde nauwkeurigheds- en veiligheidstesten. Daarnaast zullen 6 dieren gebruikt worden voor een nieuw type katheter, specifiek gemaakt voor het gebruik in de been-slagaders (bijvoorbeeld als hier een ader dichtslibt en hier een buisprothese in moet worden gebracht). Alle dieren hoeven maar eenmaal onder narcose en het experiment zal maximaal 1 dag duren. In de tweede studie zullen 10 varkens naast het eerste experiment ook een Computer Tomography Angiography (ofwel CT met contrast) krijgen. Deze CT zal dienen als 3D landkaart van de slagaderen in het lichaam. Hierdoor weet de chirurg niet alleen waar de voerdraad of katheter zich in het lichaam bevindt, maar zal de CT de operator de weg wijzen waar hij zal moeten zijn. Hierin onderzoeken we of we ook daadwerkelijk veilig ge-bruik kunnen maken van deze techniek en of de techniek nauwkeurig genoeg is in combinatie met dit 3D vaatmodel. In deze studie zal het dier tweemaal onder narcose moe-ten: eenmaal voor de CT en eenmaal voor het uiteindelijke experiment. Van beide experimenten zelf zal het dier geen ongerief ondervinden door de narcose en pijnstilling, maar het grootste ongerief in deze studie zal bestaan uit het ontwaken uit de narcose na de CT scan. Hierdoor is het ongerief van dit tweede experiment groter dan van de eer-ste studie. In de eerste studie is het ongerief gering en in de te tweede studie is totale ongerief voor het dier matig. Echter is het doel om het aantal dieren in deze groep zo klein mogelijk te houden om het ongerief te verminderen.

De inzet van proefdieren is noodzakelijk om de veiligheid en effectiviteit van dit apparaat te kunnen aantonen, in een menselijke vergelijkbare anatomische en fysiologische omgeving, voordat het kan worden toegepast in de mens.

Titel studie: Gelijktijdig meten van membraanpotentialaal en intracellulair calcium in hartspiercellen

DEC nummer: 2014.II.12.119

Gelijktijdig meten van membraanpotentialaal en intracellulair calcium in hartspiercellen

Achtergrond: Hartfalen is een ziekte die veel mensen raakt, en gaat vaak gepaard met plotse hartdood, veroorzaakt door hartritmestoornissen. Elektrische prikkels en de calciumhuishouding in het hart spelen een grote rol in hartritmestoornissen.

Doel/hypothese: De onderzoekers zullen proberen elektrische prikkels en calciumhuishouding te meten in muizen die twee fluorescente eiwitten tot expressie brengen. Hiermee willen zij een beter inzicht krijgen in de rol van deze parameters in muizen met een intacte bloedsomloop.

Globale aanpak vraagstelling: Door fluorescente sensoriwitten in hartspiercellen van muizen tot expressie te brengen, zullen we meer inzicht krijgen in de kinetiek van de calciumhuishouding en elektrische prikkels in het hart. Deze experimenten kunnen alleen uitgevoerd worden in proefdieren, aangezien een volledige bloedsomloop nodig is om hartziekte te kunnen bestuderen.

ANDERE VERGUNNINGHOUDERS

Biotrading Benelux

Titel studie: Bloedafname bij schapen, runderen, paarden en kalkoenen voor het maken van voedingsbodems

DEC nummer: 2014.II.12.093

De productie van diagnostica (o.a. voedingsbodems) uit bloed en bloedproducten van dieren

Achtergrond: Bloed en bloedproducten zijn elementaire bestanddelen van standaard diagnostische testen (o.a. microbiologische voedingsbodems) bij de diagnostiek van ziekten bij mens en dier. Deze diagnostische testen worden in medische, farmaceutische, veterinaire en microbiologische laboratoria toegepast. De wetenschappelijke kwaliteit en de relevantie van het onderzoek en productie is gewaarborgd doordat de productie afdeling ISO 9001:2000 is gecertificeerd.

Doel/hypothese: De productie van diagnostische testen uit bloed en bloedproducten afkomstig van schapen, runderen, paarden en kalkoenen.

Globale aanpak vraagstelling: Uit bloed afgenomen van schapen, runderen, paarden en kalkoenen worden diagnostische testen geproduceerd die voldoen aan de hoogste kwaliteitseisen. Er is geen alternatief voor het bloed

afkomstig van genoemde dieren. Bij schapen en runderen wordt 1x, bij paarden maximaal 4x en bij kalkoenen enkele keren een beperkte hoeveelheid bloed afgenomen.

Genmab

Titel studie: Immunization of transgenic rodents (transgene for human IgG)

DEC nummer: 2014.II.12.095

Ontwikkeling van humane antistoffen voor behandeling van ziekten

Achtergrond: Dit project richt zich op de ontwikkeling van humane monoklonale antistoffen als geneesmiddel voor ernstige ziekten zoals kanker en chronische ontstekingsziekten. In het begin van de toepassing van antistoftherapie waren vele van de toen gebruikte antistoffen afkomstig van muizen. In de mens leverde dit een allergische reactie tegen deze antistoffen op, waardoor het therapeutisch effect werd geneutraliseerd. Om dit te voorkomen, worden tegenwoordig volledig humane antistoffen gegenereerd. Deze humane antistoffen worden aangemaakt in transgene knaagdieren. De genen die coderen voor muizen/ratten immunoglobulinen zijn uitgeschakeld en vervangen door antistof genen van menselijke oorsprong, waardoor deze dieren volledige humane antistoffen produceren.

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-antistof voor therapeutische toepassing te selecteren.

Globale aanpak vraagstelling: De transgene knaagdieren (ratten) worden geïmmuniseerd met eiwitten die op kankercellen voorkomen. Van de geïmmuniseerde knaagdieren worden B-cellen geïsoleerd en gebruikt voor de productie van antistoffen in een celkweekstelsel. Hierna wordt in een uitgebreid preklinisch vervolgonderzoek de antistof geselecteerd met de beste karakteristieken voor een therapeutische toepassing bij de mens. Aangezien antistoffen in het algemeen niet toxisch zijn en humane monoclonale antistoffen geen/minimale allergische reacties teweegbrengen in de mens, is het ontwikkelings-traject van deze geneesmiddelen relatief kort, zodat een succesvolle antistof al binnen 10 jaar klinisch toepasbaar kan zijn.

Lekensamenvattingen 2014

Kamer III

Anesthesie, Endocrinologie &
Voortplanting, Epidemiologie,
Experimentele oncologie,
GDL- bedrijfsvoering, Heelkunde,
Orthopedie, IRAS, Voeding,
Onderwijsaanvragen Diergeneeskunde

Vergadering 22 januari 2014

Titel studie: Unfocused shock waves for osteoinduction in bone substitutes

DEC nummer: 2014.III.01.001

Botstimulatie in botvervangers met schokgolfterapie

Achtergrond: Botvervangers worden steeds meer gebruikt bij de behandeling van grote botdefecten en niet helende botbreuken. Een groot nadeel van deze botvervangers is echter het ontbreken van de stimulans waardoor botvoorloper cellen veranderen in botcellen (osteoinductie), die een belangrijke rol spelen bij de vorming van bot. Dit kan wel gestimuleerd worden door een (groei)factor toe te voegen, maar botaanmaak is afhankelijk van meerdere factoren, niet van een of twee factoren. Schokgolfterapie heeft aangetoond dat het meerdere factoren, die te maken hebben met botgroei, in één keer stimuleert. Tevens wordt het al veilig toegepast bij patiënten onder andere om bot aan te maken, maar ook om vaatgroei te stimuleren. Vaatgroei is een van de andere factoren die een belangrijke rol spelen bij botvorming. Schokgolfterapie is nog niet uitgetest bij botvervangers. Doel/hypothese: Ontwikkelen van een verbeterde botstimulatie in botvervangers door gebruik te maken van schokgolfterapie. Globale aanpak vraagstelling: We implanteren drie verschillende botvervangers in het bovenbeen van een rat, nadat we er zes millimeter bot uitgehaald hebben. We stabiliseren het gat in het bovenbeen door een plaat met schroeven rondom deze plek op het bovenbeen te zet-

ten. We zullen dan met een micro CT-scan de botformatie vervolgen over tijd. Tevens kijken we naar botgroei na de proef door plakjes te snijden van het bot, die kleuren we en dan kunnen we zien of er bot(cellen) aanwezig is/zijn in en rondom de botvervangers. Bij deze plakjes kunnen we ook het verloop van de botgroei over de tijd zien, omdat we gedurende het experiment meerdere keren verschillende kleuren vloeistof gebruiken die zich binden aan het bot en dan meegroeien met het nieuw gevormde bot. Op de plakjes kunnen we dan de lijntjes van de verschillende aan het bot gebonden vloeistoffen zien. Als laatste kijken we naar de vaatgroei omdat dat belangrijk is voor botgroei. Dit doen we door vloeistof in de vaten te spuiten, die we dan kunnen zien als we een micro-CT scan maken. De biologie van botgenezing is op geen enkele wijze na te bootsen, waardoor er geen goed alternatief is ter vervanging van deze dierproef.

Titel studie: Mechanismen van immunotherapie voor voedselallergie: De rol van IgG1

DEC nummer: 2014.III.01.002

Het werkingsmechanisme van immunotherapie voor voedselallergie

Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Deze allergie is ernstig en niet te genezen. Door ons onderzoek in proefdieren wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen voor pinda allergie. Allergeen-specifieke Immunotherapie (onder de huid injecteren van het al-

lergisch makende eiwit) is een mogelijke therapie voor voedselallergie. Helaas is deze therapie door het optreden van ernstige bijeffecten (waaronder anaphylactische shock) nog niet in gebruik voor voedselallergie. Het ophelderen van het werkingsmechanisme van deze therapie, waar nu nog niet veel van bekend is, zal bijdragen tot een verbetering van immunotherapie door het geven van nieuwe aanknopingspunten voor verbetering van therapie (wijze van toediening, verandering van toegediend eiwit extract, etc.). Als werkingsmechanisme van immunotherapie wordt gesuggereerd dat blokkerende antilichamen een rol spelen. Deze antilichamen zouden kunnen zorgen dat het veroorzakende eiwit niet meer aan de cellen kan binden die zorgen voor de allergische reactie. In de mens zijn dit zogenaamde IgG4 antilichamen, welke vergelijkbaar zijn met IgG1 in de muis. Doel/hypothese: Doel van dit project is om te kijken wat de onderliggende mechanismen zijn van immuuntherapie. Mogelijk speelt een speciaal soort antilichaam (IgG1) een rol.

Globale aanpak vraagstelling: In deze aanvraag willen we gaan kijken wat het werkingsmechanisme is van immuuntherapie in een veelgebruikt model voor voedselallergie. Na het allergisch maken van muizen tegen melkeiwit ontvangen deze een specifiek antilichaam (IgG1) wat tijdens immuuntherapie veel voorkomt. Door een serie blootstellingen aan melkeiwit na toediening wordt gekeken of dit antilichaam succesvol allergische reacties kan voorkomen. Dit onderzoek wordt gedaan in proefdieren om 2 redenen: Immuuntherapie kan nog steeds niet in voedselall-

gie gebruikt worden door het hoge risico op bijwerkingen in de mens. Het ophelderen van het werkingsmechanisme van deze therapie kan voor een deel ook alleen in de muis.

Titel studie: Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas

DEC nummer: 2014.III.01.003

Immunisatie ten behoeve van het maken van antistoffen tegen (menselijke) eiwitten

Achtergrond: Antistoffen reageren heel specifiek met eiwitten waartegen ze gericht zijn en kunnen daarom ook zeer gericht ingezet worden als therapie bij bv. ontstekingsziekten en kanker. Doordat de antilichamen slechts specifieke cellen als doel hebben is deze therapie veel gericht en zal het aantal bijwerkingen afnemen. De vorming van antilichamen is een ingewikkeld proces waar veel verschillende cellen een rol spelen. Daarom moeten de specifieke antistoffen eerst gevormd en geïsoleerd worden in proefdieren. Hiervoor is een standaard protocol beschikbaar waarin het eiwit samen met een adjuvant (versterkende stof) geïnjecteerd wordt en na verloop van tijd de antilichaam producerende cellen uit de milt geïsoleerd worden. Deze cellen worden verder geselecteerd tot de cel gevonden wordt die het juiste antilichaam produceert.

Doel/hypothese: Het maken van antistoffen tegen eiwitten met als doel om ziekten te behandelen en/of te bestuderen. Men moet denken aan eiwitten die een belangrijke rol spelen bij een goed functionerend menselijk immuunsysteem. De (te) ontwikkelde muizenantistoffen (en na humanisatie van deze muizenantistoffen) zouden ingezet

kunnen worden als therapeuticum bij patiënten die of een verhoogde afweerreactie hebben tegen lichaamseigen cellen (auto-immuunziektes) of juist een verlaagde afweerreactie hebben tegen bv. kankercellen of infecties. Bovendien zullen er antistoffen gemaakt gaan worden tegen voedselallergenen (bv. koemelkeiwit caseïne) voor in vitro diagnostische/predictieve doeleinden met de intentie om minder proefdiergebruik in de (hypoallergene baby) voedselindustrie te bewerkstelligen.

Globale aanpak vraagstelling: Antilichaam-vormende cellen worden verkregen uit de milt van muizen en onsterfelijk gemaakt door ze te fuseren met tumorcellen. De zo verkregen “hybridoma’s” maken continu de gewenste antilichamen. Om antistof-vormende cellen te verkrijgen is het nodig muizen te injecteren met het eiwit waartegen antistoffen gewenst zijn. Dit onderzoek wordt gedaan in proefdieren omdat de vorming van specifieke antistoffen een complex proces is, wat alleen in een intact lichaam (in vivo) plaats vindt.

Titel studie: Effects of metabolic syndrome on the epigenetics of the conceptus

DEC nummer: 2014.III.01.004

Wat is de invloed van het metabool syndroom op de genfunctie (epigenetics) en de cellulaire stofwisseling van het paardenembryo

Achtergrond: In een zeer vroeg stadium van de dracht (nog voordat de vrucht vast zit in de baarmoeder = innestelingsperiode) wordt de functie van genen vastgesteld. De genen kunnen dan als het ware aan of uitgezet worden. Dit is een permanente verandering die dus ook

van invloed blijft gedurende de rest van het leven. De mate waarin dit optreedt wordt bepaald door de omstandigheden in de baarmoeder (het milieu) en hangt dus samen met de gezondheidstoestand van de merrie/de vrouw. In deze studie wordt het paard als model gebruikt om de invloed van insuline resistentie zoals aanwezig bij zowel het humane als het equine metabool syndroom te onderzoeken op de genetische functie van het embryo, waarbij gekeken wordt welke genen veranderen onder invloed van het metabool syndroom en welke verandering er daardoor optreden in stofwisselingsgerelateerde processen in de cel. Het metabool syndroom is een syndroom waarbij o.a. suikerziekte en overgewicht als risicofactoren gelden voor het ontwikkelen van hart- en vaatziekten bij de mens en hoefbevangenheid bij het paard. Een van de oorzaken ligt in het eten van een vetrijkdiet.

Doel/hypothese: Identificeren van genen/stofwisselingspaden welke veranderen in embryo's en baarmoeders van merries lijdende aan het metabool syndroom.

Globale aanpak vraagstelling: Embryo's (voor innesteling heeft plaatsgevonden) en uteruslijmvlies (=endometrium) biopten worden gewonnen in gezonde ponymerries en ponymerries waarbij met behulp van een vetrijk dieet insuline resistentie is opgewekt, met als doel om de veranderingen in de epigenetische functie van het embryo en de verandering in stofwisselingsgerelateerde paden in de baarmoeder vast te stellen. Tevens wordt onderzocht of de eventueel opgetreden veranderingen onder invloed van het metabool syndroom teruggedraaid kunnen worden als de embryo's na 8 dagen overgeplaatst worden in de baarmoeder van een controle pony en vice versa. Bij

het paard is de innestelingsperiode veel langer dan bij de mens waardoor het overplaatsen van embryo's goed mogelijk is en tevens is de baarmoeder anders verbonden met het embryo wat grote voordelen biedt voor het veilig nemen van slijmvliesmonsters.

Titel studie: Genetic origin of subfertility in stallions II

DEC nummer: 2014.III.01.005

De genetische achtergrond van verminderde vruchtbaarheid bij de hengst

Achtergrond: In Nederland wordt de zaadcel kwaliteit van potentiële dekhengsten onderzocht voorafgaande aan het inzetten voor de fokkerij. Echter, een voldoende spermakwaliteit rapport is geen garantie voor acceptabele vruchtbaarheid, vooral omdat een regulier onderzoek slechts een gering deel van de eigenschappen nodig voor een succesvolle bevruchting, omvat. Bij de Friese hengst wordt vaak een specifieke afwijking aan de zaadcelkop gezien welke kan lijden tot verminderde vruchtbaarheid. Onlangs zijn nieuwe genetische methoden ontwikkeld waardoor wij veel meer inzicht kunnen krijgen in de genetische achtergrond, relevantie en erfelijkheid van deze specifieke afwijking.

Doel/hypothese: Opsporen van genen en/of genetische mutaties betrokken bij het ontstaan van een specifieke zaadcelkop afwijking, geassocieerd met verminderde vruchtbaarheid bij hengsten, mannen en andere mannelijke dieren.

Globale aanpak vraagstelling: Voor het vaststellen van verschillen vergelijken we de genetische achtergrond

van een groep dieren met een hoog percentage (>35%) zaadcelkopafwijkingen in het sperma, met een groep met een laag percentage (<10%) zaadcelkopafwijkingen. Deze groepen dieren selecteren we uit de reguliere spermakwaliteit diagnostiek welke verplicht is voor opname als dekhengst in het stamboek. Hierna nemen we, van beide groepen, eenmalig een ejaculaat sperma en twee buisjes bloed af. De dieren blijven in hun eigen omgeving en worden voor en na afname ingezet zoals door de eigenaar bepaald.

Titel studie: Rol van immuuncellen in leverschade veroorzaakt door medicijnen

DEC nummer: 2014.III.01.008

Leverschade door medicijnen

Achtergrond: Van veel medicijnen is bekend dat ze ernstige leverschade veroorzaken in de mens, met acuut leverfalen als mogelijk gevolg. Dit effect wordt meestal niet teruggevonden in standaard toxiciteitsstudies, omdat deze niet geschikt zijn om dit effect te detecteren en wordt dan pas zichtbaar als de medicijnen al in de mens toegepast worden. Aanwijzingen in de mens duiden op een rol van het afweersysteem bij dit toxisch effect. Zowel de farmaceutische industrie als de maatschappij heeft behoefte aan goede voorspelling van leverschade door medicijnen. Het doel van het EU-project waar dit DEC-voorstel uit voortkomt, is om een voorspellend model te ontwikkelen voor deze vorm van leverschade, gebaseerd op een combinatie van celweekmethoden, muizenstudies en computermodellen.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om vast

te stellen welke cellen van het afweersysteem betrokken zijn bij de leverschade door het antibioticum trovafloxacin.

Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden blootgesteld aan trovafloxacin of een onschuldige stof met vergelijkbare chemische structuur (levofloxacin), al dan niet in combinatie met een stimulerende factor van het afweersysteem (TNFalpha genaamd) die als co-factor voor het induceren van leverschade nodig is. Voor de toediening van het medicijn worden relevante immunologische cellen met bestaande technieken (monoklonale antilichamen) uit de muizen verwijderd. Trovafloxacin wordt gebruikt omdat de klinische effecten in de mens duidelijk zijn en omdat daar al een muizenmodel voor bestaat. Dit vergemakkelijkt het onderzoek naar de invloed van het afweersysteem en ook de vertaling van de resultaten naar de mens.

Titel studie: Aanbrengen fistel koe t.b.v. onderwijs

DEC nummer: 2014.III.01.009

Plaatsen van een pensfistel in een koe

Achtergrond/leerdoel/doelstelling: Achtergrond van de pensfistel bij koeien is het feit dat het voormagensysteem van herkauwers heel complex is wat betreft anatomie, fysiologie inclusief peristaltiek. Studenten diergeneeskunde dienen hierin onderwezen te worden aan het levende dier. Dit is alleen mogelijk door het fistuleren van koeien.

Opzet van het onderwijselement: Tijdens het onderwijs wordt de dop van de fistel verwijderd, waardoor het







mogelijk is met de hand in de pens te gaan. Hierdoor kan op een uitstekende wijze inzicht worden verworven in de anatomie en fysiologie van de pens. Het verwijderen van de dop van de fistel betekent voor de koe geen ongerief.

Titel studie: The effect of modified exercise protocol on osteoarthritis treatment

DEC nummer: 2014.III.01.010

Het effect van verschillende loop-protocollen bij de behandeling van artrose

Achtergrond: Osteoartritis (OA) is de meest voorkomende vorm van artrose bij de mens. De ziekte wordt gekenmerkt door progressief verlies van kraakbeen. Leeftijd en overgewicht zijn belangrijke risicofactoren, maar mechanische overbelasting, bijvoorbeeld als gevolg van trauma of werkomstandigheden, draagt ook bij aan de ontwikkeling van artrose. Kraakbeenweefsel, met zijn goed georganiseerde architectuur en evenwichtige samenstelling van vezels, bepaalde suikers genaamd glycosaminoglycans (GAGs) en water, vertoont een specifieke functionaliteit.

*Foto links: Koeien voor onderwijs in de stal op de campus.
Foto vorige pagina: Koeien voor onderwijs in de overdekte
buitenstal op de campus.*

De GAGs, een van de belangrijkste onderdelen van kraakbeen, worden continu afgebroken door enzymen, gaan verloren en worden opnieuw gemaakt door kraakbeencellen. Mogelijk voelen de kraakbeencellen vervorming in het kraakbeen aan en produceren dan de GAGs. De balans tussen afbraak en aanmaak van GAGs kan gemakkelijk worden verstoord om verschillende redenen. Deze redenen zijn niet bekend, maar er zijn duidelijke aanwijzingen dat dit afhankelijk is van de belasting op het kraakbeen. Doel/hypothese: Het ontwikkelen van een stapsgewijs loop-protocol om de relatie tussen mechanische belasting en de omvang en duur enerzijds en kraakbeen nano-mechanica en chondrocyten reactie anderzijds te ontdekken.

Globale aanpak vraagstelling: Gespecificeerde beschrijving van de proefopzet op hoofdlijnen: Voor de controlegroep wordt een inspannend lichaamsbewegingsprotocol gebruikt [Siebelt et al. , 2011]. Dit houdt in dat ratten vijf dagen per week één kilometer lopen in één uur. Dit protocol bewerkstelligt milde osteoartitische kenmerken en genereert verlies van een belangrijk bestandsdeel van kraakbeen, genaamd glycosaminoglycaan (GAG), binnen zes weken met een langzaam herstel in de daaropvolgende zes weken. Voor onze behandelingsgroep is de hypothese dat een extra trainingsprotocol het kraakbeen verbetert met langzaam toenemend GAG gehalte, omdat GAG niveaus in kraakbeen het gevolg zijn van een adaptatief proces en het vereist een continue gemiddeld niveau van lading op de kraakbeenmatrix. Dit gebeurt onder de juiste mechanische condities. De behandelgroep krijgt daarom een toenemend oefenprotocol van vijf dagen per week met een geleidelijk hogere snelheid en tijd (16,7-33,3

cm/s, 10-60 min) van hardlopen in de eerste acht weken, gevolgd door het zwaardere loop-protocol voor een periode van zes weken. Wij willen drie soorten analyses uitvoeren om het effect van de verschillende trainingen vanuit verschillende invalshoeken te kunnen bekijken: 1) mechanische eigenschappen, 2) structurele samenstelling van de kraakbeenmatrix en 3) biomoleculaire testen. Artrose is een multifactorieel proces en er zijn geen alternatieven voor dierproeven om het mechanische evenwicht van kraakbeen en het effect van de belasting op kraakbeen en bot remodeling proces te bepalen.

Titel studie: Engraftment, homing en self renewal normale hematopoiese: vergelijking bronnen, injectieroute en subsets

DEC nummer: 2014.III.01.011

Optimaliseren van condities voor normale humane uitgroei van bloedcellen uit stamcellen in het scaffold model

Achtergrond: In de afgelopen jaren hebben we met succes kunnen aantonen dat door in een muis eerst een menselijke bot-omgeving te creëren (d.m.v. onder de huid geplaatste scaffolds: dit zijn kleine stukjes keramisch materiaal waarop beenmergsteuncellen groeien, vandaar de naam scaffold model / scaffold muis), het mogelijk is uitgroei van bloedcellen te kunnen laten plaatsvinden in muizen. Dit geldt voor zowel normale als kwaadaardige bloedcellen, zoals bijvoorbeeld leukemie. Echter, op dit moment is nog onvoldoende bekend of stamcellen uit navelstrengbloed even goed uitgroeien als stamcellen uit beenmerg en of bepaalde subpopulaties van stamcel-bevattende bloedcellen beter uitgroeien dan andere subpopulaties.

Het is o.a. van groot belang dit te onderzoeken, omdat de beschikbaarheid van navelstrengbloed vele malen beter is als die van beenmerg. We verwachten dat dit succesvol zal zijn, omdat ook voor stamceltransplantaties in patiënten in toenemende mate gebruik wordt gemaakt van navelstrengbloed als bron. In dit experiment willen wij dan ook een vergelijking maken tussen stamcellen uit beenmerg en navelstrengbloed en verschillende stamcel-bevattende subpopulaties van bloedcellen, en kijken naar verschillende processen die ons meer vertellen over de uitgroei van deze cellen. Met deze processen bedoelen we de uitgroei in eerste instantie, de capaciteit van de stamcellen om opnieuw uit te groeien tot rijpere bloedcellen, en de capaciteit van de cellen om de beenmergomgeving te vinden en zich daar (langdurig) te nestelen. Deze experimenten zullen niet alleen inzicht verschaffen in deze processen, maar ook als leidraad dienen voor de verdere bestudering van de normale bloedaanmaak, bloedaanmaak tijdens leukemie en mogelijke toekomstige ingrepen daarin met behulp van genetische manipulatie of medicatie.

Doel/hypothese: Vergelijken van navelstrengbloed en beenmerg, route van inspuiten en verschillende hematopoietische subpopulaties, om de uitgroei zelf (engraftment), de blijvende productiecapaciteit (self renewal) en het vinden van de juiste omgeving van scaffold of beenmerg (migratie) te bestuderen.

Globale aanpak vraagstelling: Om te bestuderen of er verschillen zijn in migratie en engraftment tussen stamcellen uit beenmerg of stamcellen afkomstig uit navelstrengbloed gaan wij vier groepen met elkaar vergelijken, namelijk 1A: beenmerg in de scaffolds ingespoten, 1B: beenmerg in een ader ingespoten, 1C: navelstrengbloed

in de scaffolds ingespoten en 1D: navelstrengbloed in een ader ingespoten. Na verloop van tijd willen we de cellen oogsten uit de scaffolds, en deze opnieuw transplanteren in een tweede groep muizen (groepen 2A t/m 2D). D.m.v. groep 1A en 1C (en 1B en 1D) vergelijken we direct de uitgroei van stamcellen uit beenmerg en navelstrengbloed met elkaar, en d.m.v. vergelijken van de groepen 1A en 1B (en ook 1C en 1D) weten we of stamcellen even goed of niet het beenmerg of de scaffolds kunnen vinden, en bestuderen we dus de migratie. Door de cellen te oogsten en opnieuw te transplanteren in nieuwe muizen (2A t/m 2D), leren we of de verschillende groepen even goed in staat zijn voor de langere termijn bloedcellen te blijven produceren. Dit experiment gaat ons helpen om te bepalen welke populatie van verrijkte bloedstamcellen we het beste kunnen gebruiken voor studies waar het belangrijk is een pure populatie van stamcellen in te spuiten, bv. bij het testen van de homing/migratie eigenschappen. Dit soort studies zullen ons op de lange termijn helpen om stamcel transplantaties te verbeteren. Helaas is het niet mogelijk om bovenstaande te bestuderen met reageerbuisexperimenten, omdat hiermee de botomgeving niet kan worden nagebootst. Omdat we middels dit onderzoek de basis leggen voor optimale bestudering van bloedontwikkeling, verwachten we dat dit zal leiden tot beter onderzoek naar bijvoorbeeld de behandeling van kwaadaardige bloedontwikkeling en achten wij het gebruik van proefdieren in dit onderzoeksvoorstel ethisch verantwoord.

Titel studie: MR-HIFU ablation: a validation study in the porcine kidney and liver

DEC nummer: 2014.III.01.013

Validatie van MR-HIFU ablatie in de varkenslever en -nier

Achtergrond: Magnetische resonantie gestuurde hoge intensiteit gefocusseerd ultrageluid (magnetic resonance guided high intensity focused ultrasound, MR-HIFU) is een techniek om zonder te snijden bijvoorbeeld een tumor weg te branden. Het grote voordeel voor de patiënt is dat bijvoorbeeld tumoren zonder operatie weggehaald kunnen worden, wat veel minder belastend is. Daarnaast is het een behandeling die mogelijk geschikt is voor patiënten die niet in aanmerking komen voor een operatie. Verder is het mogelijk een alternatief voor radiofrequente ablatie (wegbranden met stroom), om mensen met hoge bloeddruk die niet reageren op medicijnen, mee te behandelen.

Doel/hypothese: In dit onderzoek zal getest worden of MR-HIFU geschikt en veilig is om in de lever, de nieren en de bijnieren te gebruiken. Daarnaast wordt gekeken of de zenuw die rondom de slagader van de nier loopt, behandeld kan worden om een hoge bloeddruk te verlagen in patiënten die niet goed reageren op medicatie tegen hoge bloeddruk.

Globale aanpak vraagstelling: Met dit onderzoek willen we aantonen dat het mogelijk en veilig is om met MR-HIFU verhitting te veroorzaken in lever-, nier- en bijnierweefsel. Daarnaast willen we aantonen dat we de zenuw die rondom de nierslagader loopt, kunnen verhitten om zo zonder snijden een chronisch hoge bloeddruk te kunnen behandelen in patiënten. Deze technieken zijn

nieuw en er is meer kennis en ervaring nodig voordat ze toegepast kunnen worden in patiënten. Hiervoor zijn dieren nodig. Er is gekozen voor varkens, omdat de grootte van de organen, de positie van de organen, de mate van doorbloeding en het gewicht van deze dieren het meeste overeenkomt met die van de mens.

Titel studie: Farmacokinetiek, weefselverdeling en therapeutisch effect van paclitaxel nanomedicijnen

DEC nummer: 2014.III.01.014

Evaluatie van nanomedicijnen voor de behandeling van kanker

Achtergrond: Kanker wordt in de meeste gevallen behandeld door (een combinatie van) chirurgische verwijdering, bestraling en chemotherapie. Chemotherapie bestaat uit geneesmiddelen die de deling remmen van snelgroeïende cellen zoals kankercellen. Na toediening verdelen deze geneesmiddelen zich over het gehele lichaam. Hierdoor worden naast de tumor ook gezonde weefsels blootgesteld aan het geneesmiddel wat leidt tot ongewenste bijwerkingen die de toepasbaarheid van de therapie limiteren. Door het geneesmiddel te verpakken in kleine bolletjes, zogenaamde dragersystemen, kunnen deze bijwerkingen worden verminderd. Deze kleine bolletjes geladen met geneesmiddelen, oftewel nanomedicijnen, verminderen de blootstelling van het geneesmiddel aan de gezonde weefsels in vergelijking met het onverpakte vrije geneesmiddel. Tegelijkertijd hopen nanomedicijnen zich ook meer in de tumor op in vergelijking met het onverpakte geneesmiddel. Door antikanker geneesmiddelen

toe te dienen als nanomedicijnen wordt het therapeutisch effect vergroot en worden de bijwerkingen verminderd. In deze studie wordt een veel gebruikt antikanker geneesmiddel, dat ernstige bijwerkingen veroorzaakt, verpakt als nanomedicijn. Vervolgens zal de circulatietijd, weefselverdeling en het therapeutisch effect van het nanomedicijn onderzocht worden in muizen.

Doel/hypothese: De doelen van deze studie zijn: 1) Bepalen hoe lang de nanomedicijnen in de bloedsomloop circuleren. 2) Bepalen hoe de nanomedicijnen zich verdelen over de weefsels in het lichaam. 3) Bepalen of de nanomedicijnen de groei van tumoren kunnen remmen.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie worden de therapeutische effecten onderzocht van kleine bolletjes geladen met een antikanker geneesmiddel, oftewel een nanomedicijn. Deze studie zal bestaan uit vier experimenten. In alle vier de experimenten worden humane tumorcellen onderhuids geïmplantemd bij de muizen waardoor zich een tumor ontwikkeld. In de eerste studie worden de tumordragende muizen ingespoten met nanomedicijnen waarna bloed wordt afgenomen om te bepalen hoe lang de nanomedicijnen circuleren. Het meest optimale nanomedicijn wordt gebruikt voor de vervolgstudies. In de tweede studie worden de tumordragende muizen ingespoten met de meest optimale nanomedicijn formulering waarna na euthanasie de organen worden verwijderd om de weefselverdeling van het nanomedicijn te bepalen. In de derde en vierde studie worden de tumordragende muizen voor langere tijd behandeld met het nanomedicijn om het therapeutisch effect te bepalen. Het nanomedicijn wordt intraveneus via de staartvene toegediend en het meten van

de tumorgrootte wordt gedaan met een schuifmaat. Na het beëindigen van de experimenten zullen de muizen worden gedood.

Vergadering 26 februari 2014

Titel studie: Onderwijssectio Herkauwer

DEC nummer: 2014.III.02.016

Het verkrijgen van inzicht en vaardigheid in het uitvoeren van de keizersnede bij het rund

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 in het kader van de afstemming van het onderwijs (in dat geval participeert slechts één student).

Opzet van het onderwijs: Onder supervisie van een dierenarts en in een gecontroleerde omgeving voert de student de sectio zelfstandig uit. Hierbij wordt er gewerkt in tweetallen waarbij ook sprake is van peer-teaching.

Titel studie: Chirurgie Kleine Herkauwers

DEC nummer: 2014.III.02.017

Het verkrijgen van inzicht en vaardigheid in het uitvoeren van een aantal chirurgische ingrepen bij het levende schaap

Achtergrond, leerdoel, doelgroep: Het onderwijs is opgezet om studenten zo goed mogelijk voor te bereiden op het uitvoeren van chirurgische ingrepen bij patiënten onder (geconditioneerde) omstandigheden en bij 'echte' patiënten. Het betreft diergeneeskunde studenten, studierichting

Landbouwhuisdieren, Herkauwers.

Opzet van het onderwijs: In een veilige leeromgeving worden, in de diergeneeskundige praktijk veel voorkomende chirurgische ingrepen bij kleine herkauwers geoefend.

Titel studie: Koepelaanvraag bloed honden en katten voor standaard onderzoek binnen de onderzoeksgroep AVM/TR1/TR2 en de patiëntenzorg

DEC nummer: 2014.III.02.018

Koepelaanvraag bloed honden en katten voor standaard onderzoek binnen de onderzoeksgroep AVM/TR1/TR2 en de patiëntenzorg

Achtergrond: Bij experimenten (bijvoorbeeld het uittesten van een nieuwe bepaling in het bloed) en diagnostische testen (bijvoorbeeld osmotische resistentie voor het vaststellen van auto-immune hemolytische anemie) is als controle of referentie veelal vers bloed van gezonde honden of katten nodig. Om deze dagelijkse werkzaamheden uit te kunnen voeren zijn gezonde donor honden en katten nodig. Er worden tot 5 honden en tot 5 katten gebruikt voor dit onderzoek. De dieren zijn nodig als bloed donoren. Het verkrijgen van deze monsters is weinig invasief en daardoor wordt geen ernstige aantasting van de gezondheid van deze dieren verwacht door de monsternamen en daarmee dus geen uitval.

Doel/hypothese: Referentie bloed voor onderzoek of patiëntenzorg.

Globale aanpak vraagstelling: Maximaal 2x per week wordt er bloed afgenomen, indien vers serum/plasma/

primaire cellen nodig zijn voor onderzoek / laboratorium testen. Per keer wordt maximaal 10 mL bloed afgenomen uit de jugulaire vene. Er worden 5 gezonde honden en 5 gezonde katten gereserveerd voor deze DEC aanvraag, deze dieren kunnen ook worden ingezet voor andere DEC aanvragen en voor onderwijs. Na bloedafname worden 2 rustdagen in acht genomen. Dit geldt zowel voor bloedafname in het kader van onderzoek/onderwijs, als voor het afnemen van bloed als referentie zoals bedoeld in deze aanvraag. Als er meer donoren nodig zijn voor onderzoek zullen er extra dieren (tot een totaal van 5) geselecteerd worden uit het proefdierenbestand, ook deze dieren zullen niet gelijktijdig voor andere DEC aanvragen ingezet worden. Dieren worden niet in de tijd vervolgd; dieren gaan in de proef bij start monsternamen en als er geen bijzonderheden zijn gaan de dieren uit de proef bij einde monsternamen ($t=5$ minuten), de verantwoordelijkheid voor de dieren wordt hierbij overgedragen aan de kliniek Gezelschapsdieren. Er is hiervoor geen alternatief, dus inzet van proefdieren is noodzakelijk

Titel studie: Werken blokkade van de CD40pathway door MR1 en FXR activatie door INT-747 synergistisch in de remming van darminflammatie?

DEC nummer: 2014.III.02.019

Op zoek naar een alternatief medicijn voor Inflamatoire darmziekten (inflammatory bowel diseases, IBD)

Achtergrond: IBD wordt gekenmerkt door een verstoorde barrière functie in de darm, en hierdoor een toegenomen blootstelling van het afweersysteem aan

darmbacteriën. Het afweersysteem van de darm reageert hier vervolgens overdreven op waardoor er chronische ontstekingen van de darm ontstaan en het klinisch beeld dat hoort bij IBD. De huidige medicatie voor IBD patiënten geven veel bijwerkingen, zoals diabetes, infecties en bloedvergiftiging. Dit komt deels doordat de medicatie aangrijpt op de immuun cellen en ook andere weefsels in het lichaam. Wij hebben recent aangetoond dat activatie van de galzout sensor, FXR, de darmbarrière functie in muizen kan verbeteren en als bijgevolg gunstige effecten heeft op de darmontsteking. De CD40 pathway speelt een belangrijke rol in de regulatie van de immuunrespons. CD40-CD40Ligand interacties tussen immuun cellen zijn betrokken bij de vrijzetting van ontstekingsmediatoren (inflammatoire cytokines). Op deze manier kan deze pathway in belangrijke mate bijdragen aan de chronische ontsteking die kenmerkend is voor vele auto-immuun aandoeningen, een groep van aandoeningen waartoe ook IBD behoort.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om te onderzoeken of FXR activatie en blokkade van de CD40 pathway leidt tot synergistische remming van darmontsteking.

Globale aanpak vraagstelling: In muizen zal darmontsteking worden geïnduceerd. Onderzocht zal worden of in de muizen waarin FXR wordt geactiveerd en de CD40 route wordt geblokkeerd, de darmontsteking sneller en beter wordt geremd. De beide therapieën afzonderlijk verbeteren de gezondheid van de darm. Het is niet mogelijk dit op een andere manier te onderzoeken of deze twee therapieën samen tot een nog beter resultaat leiden.

Titel studie: Does FXR activation by TC100 protects against intestinal inflammation in mice?

DEC nummer: 2014.III.02.020

Op zoek naar een alternatief medicijn voor Inflammatoire darmziekten (inflammatory bowel diseases, IBD)

Achtergrond: De huidige medicatie voor IBD patiënten geven veel bijwerkingen, zoals diabetes, infecties en bloedvergiftiging. Dit komt deels doordat de medicatie aangrijpt op de immuun cellen en ook andere weefsels in het lichaam. Wij hebben recent aangetoond dat activatie van de galzout Receptor, FXR, darmontsteking in muizen kan remmen. In dit onderzoek was INT-747 (een synthetisch galzout) gebruikt om FXR te activeren. In dit onderzoek willen we testen of het nieuwe medicijn TC100 FXR kan activeren en daarmee darmontstekingen kan remmen. Daarnaast willen we kijken of TC100 darm specifiek is, d.w.z. alleen een effect heeft in de darm. Gebaseerd op de eigenschappen van het molecuul TC100 wordt gedacht dat TC100 in de darm blijft en niet via de circulatie bij de lever terecht kan komen. Dit zou mogelijk tot minder bijwerkingen kunnen leiden.

Doel/hypothese: Onderzoeken of TC100 darm specifiek FXR kan activeren en daarmee ontsteking kan remmen. Globale aanpak vraagstelling: In muizen met en zonder FXR in de darm zal darmontsteking worden geïnduceerd. Onderzocht zal worden of in de muizen met FXR TC100 ontstekingen kan remmen. Als FXR een rol speelt in het remmen van de ontsteking dan zou je geen remming van ontsteking moeten zien in de muizen zonder FXR. Het is noodzakelijk om dit in een muismodel te bestuderen.

Titel studie: De effecten van het zgn. metabool syndroom op het musculoskeletale en cardiovasculaire risicoprofiel van shetland pony's

DEC nummer: 2014.III.02.021

Het effect van het zgn. metabool syndroom op het klinisch locomotie en cardiovasculaire ziekte risico profiel van shetland pony's

Achtergrond: Hoofddoel van het volledige project is het vaststellen van de gevolgen van het equine metabool syndroom (EMS) bij de merrie op de belangrijkste genetische en metabole paden evenals de epi-genetische modificaties welke optreden in het embryo tijdens de innestelingsfase in het endometrium zoals beschreven in voorgaande studie. Hiertoe zal het equine metabool syndroom geïnduceerd worden bij een genetisch gepredisposeerd paardenras (shetlander pony) door aanpassingen in het dieet zoals reeds beschreven. Het metabool syndroom leidt bij de mens tot hart- en vaatziekten; bij het paard leidt het tot hoefbevangenheid. Een van de hypothesen is dat in genetisch gepredisposeerde pony's obesitas, hyperinsulinemie/insuline resistentie, verstoring van de vetstofwisseling en hypertensie gemakkelijker optreden. Het is echter niet duidelijk wat oorzaak en gevolg is. Wel is duidelijk dat het induceren van een hyperinsulinemie gedurende drie dagen via een continu infuus hoefbevangenheid kan opwekken in gezonde paarden. De hypothese is dat hyperinsulinemie leidt tot vaatwandvernauwing welke bij het paard vooral de vaten in de onder voet betreft, echter ook systemisch

is een bloeddrukverhoging meetbaar (hypertensie). Een recente studie geeft aan dat deze hypertensie mogelijk tot hartaanpassingen en dus tot hypertensieve cardiomyopathie kan leiden. Door de geleidelijke inductie van het overgewicht en de insuline resistentie is het mogelijk om de invloeden hiervan op het cardiovasculaire systeem evenals die op de onder voet longitudinaal te volgen en zo nader inzicht te krijgen in de volgorde van de pathofysiologische processen en de gevolgen voor de hartspier en het locomotie apparaat zowel op de kortere ('prodromie / early warning signs') als op de langere termijn ('reversibele vs non reversibele signs').

Doel/hypothese: Het voorgestelde experiment zal uitgevoerd worden met n=14 pony's verdeeld over een controle groep (n=6 pony's) en een equine metabool syndroom (EMS) groep (n=8 pony's). De EMS groep zal gedurende 3-4 maanden gevoerd worden met een dik makend dieet met de verwachting dat de dieren te dik en aldus insuline resistent (IR) zullen worden. De controle groep krijgt een normaal rantsoen. Gedurende deze 3-4 maanden van het dieet zullen er verschillende non invasieve metingen verricht worden om belangrijke informatie te verzamelen m.b.t. het herkennen van 'vroegge waarschuwingssignalen' i.c. prodromie verschijnselen, nl. dat de dieren door de perifere vaatvernauwingen hoofbevangenheid dan wel hypertensie gaan vertonen. Globale aanpak vraagstelling: Het voorgestelde experiment zal uitgevoerd worden met shetland pony's, omdat deze genetisch gepredisponeerd lijken te zijn voor EMS en aldus makkelijker met een dik makend dieet insuline resistent (IR) zullen worden. De controle groep krijgt immers een normaal rantsoen.

Titel studie: Evaluation of therapies against tumor stroma in pancreatic tumor model

DEC nummer: 2014.III.02.022

Evaluatie van therapieën gericht tegen de tumor stroma in alvleesklierkanker

Achtergrond: De ontwikkeling van tumoren en hun groei zijn niet alleen afhankelijk van de tumorcellen, maar ook van de cellen uit de tumor stroma. De stroma bestaat uit verschillende types cellen. In alvleesklierkanker leidt de interactie tussen de kankercellen en de in rust verkerende pancreatic stellate cells (PSC's) tot activatie van deze cellen naar myofibroblasten. PSC's zijn belangrijke targetcellen in alvleesklierkanker. In dit project willen we gerichte therapieën ontwikkelen die de differentiatie/activatie van PSC's remt, gebruik makend van nieuwe specifiek tegen PSC gerichte nanodeeltjes. Om deze cellen te bereiken, moeten deze nanodeeltjes aan de PSC's binden, waarna de geneesmiddelen in de cel afgeleverd kunnen worden. Op het gebied van kanker zijn onderhuidse tumormodellen, die geen stroma bevatten, de meest voorkomende modellen, terwijl stroma de belangrijkste barrière is voor geneesmiddelen/deeltjes. In dit onderzoek willen we een tumormodel gebruiken dat verrijkt is met stroma. We hebben een nieuwe procedure opgezet voor de ontwikkeling van stroma waarin in verhoogde mate PSC's voorkomen. Omdat deze nanodeeltjes specifiek zijn ontwikkeld tegen de menselijke targets, moeten we gebruik maken van een tumormodel dat menselijke PSC's bevat. Wanneer deze specifieke nanodeeltjes zijn ontwikkeld, zullen we ze voor therapeutische

doeleinden gebruiken met eiwitten en nucleïnezuren. Uit eigen celkweekonderzoek hebben we verschillende therapeutische eiwitten gevonden die de activatie van PSC's kunnen verminderen. De activatie van PSC's wordt gereguleerd door nucleïnezuren en daarom is dit een interessant target om de PSC-activatie te verminderen. De onderzoeksvragen van dit project zijn:

1. Wat is het effect van de tumor stroma op de penetratie van nanodeeltjes?
2. Welke grootte van nanodeeltjes is nodig om in de tumor door te dringen en zo toegepast te kunnen worden voor de targeting van PSC's?
3. Zijn de ontwikkelde nanodeeltjes, specifiek gericht tegen PSC's in staat deze cellen te bereiken in een stro-marijk tumormodel?
4. Wat is het effect van therapieën gericht tegen PSC's op de tumorgroei?
5. Verbetert de behandeling met therapieën tegen PSC's de respons op gemcitabine?

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het ontwikkelen van nieuwe gerichte therapieën tegen alvleesklierkanker door PSC's als doelwit te gebruiken.

Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek worden alvleeskliertumoren ontwikkeld in muizen.

Hiervoor worden de muizen geïnjecteerd met de tumorcellen in combinatie met de pancreatic stellate cells (PSC's). De dieren zullen worden behandeld met nanosystemen specifiek gericht tegen de tumor en beladen met medicatie die de tumorgroei remt. Tijdens deze behandelingen zal de gezondheid van de muizen worden gecontroleerd. Aan het eind van het experiment worden de dieren opgeofferd en het effect van de behandeling op

de tumorgroei onderzocht. In het eerste onderzoek zal de tumorpenetratie van verschillende groottes nanodeeltjes worden onderzocht, om zo geschikte deeltjes te vinden om geneesmiddelen te bezorgen bij de tumor. Daarna zal de specifieke binding van de nanodeeltjes aan PSC's worden onderzocht. In de studie die daarop volgt, zullen deze PSC-specifieke nanodeeltjes beladen worden met nucleïnezuren of eiwitten. Doordat de nanodeeltjes de nucleïnezuren en eiwitten afleveren aan de PSC's zullen deze geneesmiddelen het ziekteproces reguleert. De geselecteerde geneesmiddelen zijn al onderzocht in PSC's in celkweek en de meest effectieve geneesmiddelen zullen worden gebruikt in de dierstudies. Door gebruik te maken van nanodeeltjes specifiek gericht tegen PSC's, kunnen deze geneesmiddelen specifiek worden bezorgd bij hun targetcellen, terwijl interacties met andere cellen in het lichaam worden voorkomen. Op deze manier kan de therapeutische effectiviteit worden verhoogd, terwijl de bijwerkingen worden geminimaliseerd. 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. Uit eerder onderzoek is gebleken dat dieren weinig ongerief ervaren van dit soort onderzoek. Daarnaast wordt er gewerkt volgens de "code of conduct" voor kankeronderzoek.

Titel studie: Controlled intra-articular release of Celecoxib by a gel in an acute synovitis model in horses

DEC nummer: 2014.III.02.023

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, leidend tot ernstige invaliditeit.

Doel/hypothese: Het testen van celecoxib afgifte door gel in een paardengewricht. Deze gel is een thermoresponsieve gel (stolt bij 37 C). Deze gel wordt vervolgens geladen met artrose remmend geneesmiddel, namelijk celecoxib. In deze aanvraag richten wij ons enerzijds op de duur van afgifte van celecoxib door de gel en anderzijds op het effect van de celecoxib geladen gel in een experimenteel gewrichtsontstekingsmodel bij het paard. Globale aanpak vraagstelling: Het is reeds gebleken dat het veilig is om de gel te injecteren in het gewricht van paarden. Door de gel te laden met een artrose remmend geneesmiddel, namelijk Celecoxib, is er gebleken dat er een verlengde en gedoseerde afgifte van het geneesmiddel optreedt na injectie in het gezonde gewricht en dat de combinatie gel - Celecoxib tevens veilig is voor

paarden. Celecoxib wordt in de kliniek gebruikt voor de behandeling van osteoarthritis of gewrichtsontsteking. De werking van de gel - Celecoxib combinatie in hoge en in lage dosis zal uitgetest worden in een experimenteel gewrichtsontstekingsmodel bij paarden. 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. Tevens wordt gekeken naar de duur en de mate van afgifte van de ontstekingsremmer in het gewricht. Hierbij wordt een vergelijking gemaakt met Celecoxib injectie in het gewricht zonder gel. 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. Tevens is gebleken dat het gewrichtsontstekingsmodel bij het paard prima met de situatie van de mens kan vergeleken worden, zodoende de resultaten ook nuttig zijn voor het toepassen van deze strategie bij de mens.

Titel studie: GG2653 (humaan IAPP transgeen [GG018] x leptinOB)

DEC nummer: 2014.III.02.024

GG2653 (humaan IAPP transgeen [GG018] x leptinOB)

Doel/wetenschappelijk en maatschappelijk belang: Type 2 diabetes mellitus (ouderdomssuikerziekte) is een chronische ziekte, met verschillende, ernstige complicaties. Het is een van de belangrijkste oorzaken voor hart- en vaatziekten, waar ongeveer 75% van deze patiënten aan overlijdt. De ziekte kan wel worden behandeld, maar (nog) niet genezen. Op weefselniveau wordt type 2 diabetes

gekenmerkt door eiwitafzettingen in de eilandjes van Langerhans in de alvleesklier. De bouwsteen van dit “eilandjesamyloid” is het eiwit IAPP (islet amyloid polypeptide) dat door de eilandjes bètacellen (die ook insuline maken) wordt geproduceerd. Vorming van eilandjesamyloid is geassocieerd met dood van bèta cellen en het ontstaan van een insuline tekort. Door de eilandjesamyloidose te remmen kan de insulineproductie (langer) gehandhaafd worden en progressie van de ziekte, alsmede het optreden van de vele, ernstige complicaties, worden voorkomen of althans uitgesteld. Wij bestuderen eilandjesamyloidose in transgene muismodellen die het menselijke (humane) IAPP maken, want muizen IAPP kan geen amyloid vormen. Door deze muizen te kruisen met Leptin-obese muizen, die door een erfelijk defect overgewicht ontwikkelen, wordt de eilandjesamyloidose gestimuleerd en ontstaat suikerziekte. In de hIAPP en hIAPP/ObOb muizen willen we nu een compound testen die in muismodellen voor andere amyloidziekten effectief is gebleken.

Titel studie: Anti-oligomeer compound behandeling van hIAPP- en hIAPP/ObOb transgene muizen: een effectieve therapie voor T2DM?

DEC nummer: 2014.III.02.025

Anti-oligomeren: Een nieuwe therapie voor ouderdomssuikerziekte (type 2 diabetes mellitus)?

Achtergrond: Type 2 diabetes mellitus (ouderdomssuikerziekte) is een chronische ziekte, met verschillende, ernstige complicaties. Het is een van de belangrijkste oorzaken voor hart- en vaatziekten, waar ongeveer 75% van deze

patiënten aan overlijdt. De ziekte kan wel worden behandeld, maar (nog) niet genezen. Op weefselniveau wordt type 2 diabetes gekenmerkt door eiwitafzettingen in de eilandjes van Langerhans in de alvleesklier. De bouwsteen van dit “eilandjesamyloid” is het eiwit IAPP (islet amyloid polypeptide) dat door de eilandjes bètacellen (die ook insuline maken) wordt geproduceerd. Vorming van eilandjesamyloid is geassocieerd met dood van bèta cellen en het ontstaan van een insuline tekort. Vooral kleinere aggregaten (oligomeren) van het IAPP zouden het meest schadelijk zijn voor de pancreas bèta cellen. Doel/hypothese: Eilandjesamyloidose, door aggregatie van het IAPP eiwit, komt voor bij 80-90 % van de patiënten met ouderdomsdiabetes en is dus een gemeenschappelijke diabetogene factor in deze heterogene ziekte. Door de schadelijke effecten van eilandjesamyloidose, en vooral van de kleinere IAPP aggregaten (oligomeren) te remmen kan de insulineproductie (langer) gehandhaafd worden en progressie van de ziekte, alsmede het optreden van de vele, ernstige complicaties, worden voorkomen of althans uitgesteld.

Globale aanpak vraagstelling: Type 2 diabetes is een multifactoriële ziekte die verschillende organen betreft. De rol van verschillende genen/eiwitten in het proces van amyloidvorming in de eilandjes van Langerhans, en de consequentie voor het glucose metabolisme, kan alleen in een intact dier en op langere termijn goed onderzocht worden. Vooral kleine aggregaten (oligomeren) van amyloidvormende eiwitten blijken bij amyloidziekten het meest schadelijk te zijn. Daarom willen we onze muismodellen voor

type 2 diabetes (hIAPP en hIAPP/ObOb muizen) behandelen met een anti-oligomeer compound die bij twee andere amyloidziekten al effectief is gebleken.

Titel studie: Weefselverdeling en farmacokinetiek van polyplexen

DEC nummer: 2014.III.02.026

Evaluatie van nanomedicijnen voor antikanker gentherapie in muizen

Achtergrond: Gentherapie is het inbrengen van genetisch materiaal (DNA) in cellen om een ziekte te behandelen. Om antikanker gentherapie te laten slagen, dient het DNA afgeleverd te worden in de kern van een tumorcel. DNA wordt snel verwijderd uit de bloedbaan na toediening en is niet in staat om zelf cellen binnen te gaan. Om deze reden wordt DNA geladen in een dragersysteem zodat kleine deeltjes ontstaan die kunnen circuleren in de bloedbaan en cellen kunnen binnen gaan. Deze kleine deeltjes geladen met DNA (nanomedicijn) zijn na intraveneuze toediening afhankelijk van circulatietijd en weefselverdeling voor het therapeutisch effect. In deze studie wordt met behulp van niet-invasieve beeldvormingstechnieken de circulatietijd en weefselverdeling van een nanomedicijn voor antikanker gentherapie onderzocht. Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bepalen van de weefselverdeling en circulatietijd van een nanomedicijn dat kan worden gebruikt voor gentherapie. Globale aanpak vraagstelling: Gentherapie is een veelbelovende strategie om kanker te bestrijden. Gentherapie

is afhankelijk van succesvolle aflevering van genetisch materiaal (DNA) op de juiste plek (kern) van een zieke cel (tumorcel). Omdat DNA na toediening snel wordt afgebroken in het lichaam en niet in staat is om cellen binnen te gaan worden zogenaamde dragersystemen gebruikt. Deze dragersystemen kunnen worden geladen met het DNA waardoor kleine deeltjes ontstaan (nanomedicijnen) die wel kunnen circuleren in de bloedbaan en tevens cellen kunnen binnengaan. De toxiciteit en het therapeutisch effect van een nanomedicijn is voor een groot deel afhankelijk van de circulatietijd en weefselverdeling van het nanomedicijn na intraveneuze toediening. In deze studie worden deze parameters van een gentherapie nanomedicijn onderzocht met behulp van niet-invasieve beeldvorming in muizen. Ondanks technologische vooruitgang zijn er momenteel (nog) geen goede alternatieven om de circulatietijd, weefselverdeling en therapeutisch effect van nanomedicijnen te bestuderen. Aangezien dit cruciale aspecten zijn van nanomedicijn karakterisering zijn proefdieren nodig om dit te onderzoeken.

Titel studie: The role of FXR activation as an anti-inflammatory drug on tumor development after radio frequency ablation in conditional Rb/p53 deficient mice

DEC nummer: 2014.III.02.027

Ontwikkeling van lever tumoren in muizen met gemodificeerde genen

Achtergrond: Levertumoren is 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 overgangsg gebied tussen gezonde lever en de beschadigde lever. Recent heeft Utrechts onderzoek ook aangetoond dat activatie van de Farnesoid X receptor (FXR) ontsteking in lever en darm kan remmen. Tevens is beschreven dat in muizen die het gen voor FXR missen, spontane tumoren in lever en darm ontstaan.

Doel/hypothese: Behandeling van muizen met een FXR activator 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 lever lobben beschadigd (met necrose als gevolg). Op de plaats van necrose zal een levertumor ontstaan. Op tijdstip 3 weken na operatie en op tijdstip 10 weken na operatie worden de muizen geëuthanaseerd om te onderzoeken welke moleculaire

mechanisme ten grondslag liggen aan de tumorvorming. Bij de helft van de dieren wordt een FXR ligand toegediend. In de analyses zal worden bepaald in welke mate dit FXR ligand de vorming van tumoren heeft beïnvloed. Het model dat gebruik maakt van deze muizen 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.

Vergadering 26 maart 2014

Titel studie: Mutual action of vitamin A and vitamin D on their metabolism in bone

DEC nummer: 2014.III.03.028

Vitamine A overmaat bij de kat

Achtergrond: Veel huisdiervoeders worden gesupplementeerd met vitamine A. Ook consumeren steeds meer mensen vitamine preparaten en/of vis met daarin hoge gehalten aan vitamine A. Bij katten kunnen woekeringen van het skelet (buiten de gewrichten) optreden door hoge inname van vitamine A en rauwe lever of vis. Met dit onderzoek hopen wij de mechanismen te ontdekken waarmee vitamine A de botstofwisseling beïnvloedt, om hiermee de samenstelling van voeding voor de kat te optimaliseren. Ook willen wij methoden (bloedonderzoek, röntgenonderzoek) vinden, waardoor de diagnose van een vitamine A overmaat sneller kan worden vastgesteld.

Doel/hypothese: Vraagstelling: onderzoeken van de mechanismen waarmee vitamine A invloed heeft op het botmetabolisme en de mogelijke invloed hierop van vitamine D.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek worden 24 katten gebruikt die een speciale voeding krijgen. 6 katten krijgen controle voedsel, 6 katten een dieet dat veel vitamine A bevat, 6 katten een dieet dat weinig vitamine D bevat en 6 katten een dieet dat veel vitamine A en veel vitamine D bevat. Aan het eind van de studie zal er met bloedonderzoek en met röntgenonderzoek (onder sedatie) worden gekeken naar eventuele veranderingen

in het bot. Post-mortaal zullen er bipten worden genomen om een indruk te krijgen van de veranderingen die bij deze ziekte een rol spelen. De kat is zowel doeldier als proefdier, dus het experiment kan niet op een andere wijze worden uitgevoerd met dezelfde wetenschappelijke impact.

Titel studie: De opname van voedsleiwitten in het kader van voedselallergie: De rol van M cellen en Peyerse Platen

DEC nummer: 2014.III.03.029

De rol van M cellen en PP in de opname van en reactie tegen voedsleiwitten 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 voedsel allergie. Een van de risico's van voedselallergie is de mate en route van opname van het veroorzakende eiwit (allergeen) in de darm. Een van deze routes is opname via zogenaamde M cellen en Peyerse Platen, deze route is mogelijk beschermend in de ontwikkeling van allergie.

Doel/hypothese: Het doel van deze proef is om 1) na te gaan of pindaeiwitten in de darm via M cellen worden getransporteerd. 2) te kijken wat de rol is van M cellen en Peyerse Platen in beschermende processen gedurende het ontwikkelen van voedselallergie.

Globale aanpak vraagstelling: De opname route is 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 2 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: The effect of EPA and DHA on gingivitis in dogs

DEC nummer: 2014.III.03.030

De invloed van visolie (langketen omega-3 vetzuren eicosapentaeenzuur en docosahexaeenzuur) op tandvleesontsteking bij de hond

Achtergrond: Tandvleesontstekingen komen zeer vaak voor bij honden en ook bij mensen. Van omega-3 vetzuren uit visolie (eicosapentaeenzuur en docosahexaeenzuur) is bekend dat deze een ontstekingsremmende werking hebben die is aangetoond bij onder andere gewrichtsontstekingen bij mensen, honden en katten. De vraag is of deze vetzuren ook effectief zijn bij het voorkomen van tandvleesontstekingen bij honden. Doel/hypothese: Doel van de proef is om te onderzoeken of suppletie van omega-3 vetzuren eicosapentaeenzuur en docosahexaeenzuur (EPA en DHA) na gebitsreiniging een positief effect hebben op de mondgezondheid door vermindering van tandvleesontsteking, tandplaque en tandsteen vorming bij honden.

Globale aanpak vraagstelling: 22 Honden zullen onder anesthesie een gebitsreiniging ondergaan en vervolgens een speciaal dieet voorgeschreven krijgen gedurende 6 maanden. Aan dit dieet wordt dubbel blind placebo gecontroleerd een olie gegeven met EPA en DHA (visolie), danwel de placebo (maisolie). De oliën zijn qua uiterlijk en geur identiek gemaakt. De zegel van de envelop met de analyse van de oliën wordt pas verbroken nadat analyse en statistiek hebben plaatsgevonden. Na deze 6 maanden wordt onder sedatie opnieuw een gebitscontrole uitgevoerd en indien nodig onder anesthesie een gebitsreiniging uitgevoerd. Uitleesparameters zijn gingivitis score, plaque score en tandsteen score. Daarnaast wordt aan het begin van de studie en aan het eind van de studie bloed afgenomen voor bepaling van ontstekingsmediatoren en vetzuurpatroon.

Titel studie: The role of Sirt1 and PGC1a in coloncancer

DEC nummer: 2014.III.03.031

De rol van Sirt1 en PGC1a in darmkanker

Achtergrond: Darmkanker is de op 1 na belangrijkste oorzaak van kanker-gerelateerde sterfte in de westerse wereld. Zodra de ziekte uitgezaaid (zich verplaatst heeft naar buiten de darm) is, werkt chemotherapie weliswaar levensverlengend, maar biedt geen hoop meer op genezing. De resistentie van darmtumoren tegen de reguliere therapeutica is hiervan de oorzaak. Basaal onderzoek naar deze resistentie heeft aangetoond dat darmtumoren een 'overlevingsroute' gebruiken die hen in staat stelt de chemotherapie te overleven. De rol van Sirt1 en PGC1a

bij het overleven van chemotherapie wordt in dit project onderzocht. Het Sirt1-gen is het gen dat codeert voor het eiwit Sirt1. Het Sirt1 eiwit regelt het energiemetabolisme van mitochondriën (de energiefabriek van de cel), daarnaast activeert het Sirt1 eiwit DNA reparatie mechanismen. Het Sirt1 eiwit speelt dus een belangrijke rol bij het herstellen van chemotherapie. Het PGC1a gen bevat de code voor het PGC1a eiwit. Dit eiwit wordt door het Sirt1 eiwit geactiveerd en zorgt op zijn beurt voor meer activiteit van de mitochondriën. Wij zullen onderzoeken hoe het gedrag van patiënt-afgeleide tumoren veranderd als het effect Sirt1 en PGC1a experimenteel wordt verminderd. Daarbij maken wij onderscheid tussen:

1. Tumorstormend vermogen (getest in de subcutane ruimte). Dit is na het inspuiten het vormen van een klomp cellen onder de huid.
2. Therapie respons (getest door reactie op chemotherapie). De grootte van de onder de huid gevormde klomp cellen.

Doel/hypothese: Het bepalen van de rol van het Sirt1-gen en het PGC1a-gen in I) de vorming van tumoren en II) de therapierespons van patiënt-afgeleide darmtumor kweken.

Globale aanpak vraagstelling: Wij hebben in van patiënten afkomstige cellijnen het Sirt1 en het PGC1a gen uitgeschakeld met 2 afzonderlijke RNAi's (zoals gebruikelijk in dit type experiment). RNA interferentie is een methode waarbij de cel een niet functionerend eiwit gaat produceren dat erg lijkt op het eiwit dat je wilt onderdrukken. Door dit 'kreupele' eiwit te maken verminder je de functie van het 'doel' eiwit. In het experiment maken we gebruik van de volgende cellijnen: 1) controle cellijn

(functioneel Sirt1 en functioneel PGC1a gen), 2) cellijn met Sirt1-gen niet functioneel en 3) cellijn met PGC1a-gen niet functioneel. Deze 3 cellijnen zullen in beide flanken van naakte immuun gecompromitteerde muizen geïnjecteerd worden. Tumoren die uitgroeien, zullen vervolgens behandeld worden met oxaliplatin en fluorouracil, de standaard behandeling van darmkanker patiënten. Alle in vitro experimenten zijn gedaan en laten een essentiële rol zien voor Sirt1 en PGC1a in de overleving van darmtumorcellen. Echter tumorvorming en therapierespons hangen ook heel erg af van de directe omgeving van de tumor en kunnen dus niet in vitro bestudeerd worden. De enige wijze waarop de tumor in zijn 'natuurlijke' omgeving bestudeerd kan worden is momenteel helaas in proefdieren.

Titel studie: Nutrall 2014: Verbetering van orale en subcutane immunotherapie in een model voor voedsel allergie door FOS/FOS oligosachariden

DEC nummer: 2014.III.03.032

Verbetering van allergie immunotherapie door prebiotica in een model voor voedsel allergie

Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Deze allergie is ernstig en niet te genezen. Door ons onderzoek in proefdieren wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen voor pinda allergie. Subcutane allergeenspecifieke immuuntherapie (onder de huid injecteren van het allergisch makende eiwit) is een mogelijke therapie

voor voedselallergie. Helaas is door het optreden van ernstige bijeffecten deze therapie nog niet in gebruik voor voedselallergie. Deze aanvraag kijkt of orale immunotherapie een nieuwe, effectieve toedieningsroute kan zijn. Hierna kijken we of het toedienen van prebiotica (die de groei van gunstige bacteriën in de darm bevorderen) zowel subcutane als orale immunotherapie kan verbeteren en veiliger maken.

Doel/hypothese: Het doel van deze aanvraag is om na te gaan of we met prebiotica orale en subcutane immunotherapie kunnen verbeteren en veiliger maken.

Globale aanpak vraagstelling: In deze aanvraag willen we gaan kijken of we immunotherapie kunnen verbeteren in twee veelgebruikte muis modellen voor voedselallergie (pinda of melk). Na het allergisch maken van muizen tegen pinda of melkeiwit ontvangen deze subcutane of orale immunotherapie. Door een serie blootstellingen aan pinda of melkeiwit na deze immunotherapie wordt gekeken of deze therapie succesvol allergische reacties kan voorkomen. Ook wordt er door een muisdieet met zogenaamd FOS/FOS suikers (een prebioticum) gekeken of subcutane of orale immunotherapie verbeterd en veiliger gemaakt kan worden. Dit onderzoek wordt gedaan in proefdieren om 2 redenen: Immunotherapie kan nog steeds niet in voedselallergie gebruikt worden door het hoge risico op bijwerkingen in de mens. Het verbeteren van deze therapie kan daarom ook alleen in de muis.

Het ophelderen van het werkingsmechanisme van deze therapie kan voor een deel ook alleen in de muis door de gebruikte parameters en gebruik van weefsels.

Titel studie: De behandeling van osteoartrose met corticosteroiden door middel van intra-articulaire injectie met liposomen

DEC nummer: 2014.III.03.033

Het behandelen van osteoartrose met preparaten die langzaam medicatie afgeven

Achtergrond: Artrose is een veelvoorkomende ziekte waarbij het kraakbeen dunner en zachter wordt en dit leidt tot pijn en stijfheid in de gewrichten. De behandeling bestaat vaak uit een combinatie van bewegen en het voorschrijven van pijnstillers die ook ontstekingsremmend werken. Voor de optimale werking van deze medicijnen kunnen ze het beste in het gewricht gespoten worden. Dit kan echter niet te vaak en de dosis mag ook niet te hoog zijn, want dan kunnen er bijwerkingen optreden. Daarom zijn er preparaten ontwikkeld die de medicatie vertraagd kunnen afgeven. Die hoeven dus minder vaak in het gewricht gespoten worden en kunnen dan over lange tijd een beperkte dosis afgeven.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om deze preparaten te testen in ratten zodat we de juiste dosis en de effectiviteit van de behandeling kunnen bepalen.

Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studie maken we gebruik van ratten waarbij artrose wordt opgewekt in de knieën. Daarna zullen we de preparaten, die geladen zijn met corticosteroiden, inspuiten in de knie van de proefdieren. Vervolgens zullen we de effecten op het kraakbeen en de bijwerkingen bekijken. Uit studies in het laboratorium is al gebleken dat corticosteroiden een gunstig effect kunnen hebben op kraakbeen. En de veiligheid van de preparaten zonder medicatie is ook al

aangetoond. De volgende stap is om te bekijken of preparaten met corticosteroïden kunnen helpen bij artrose zonder dat ze andere bijwerkingen veroorzaken in kleine proefdieren. Daarna zouden deze preparaten dan in grote proefdieren of mensen getest kunnen worden.

Titel studie: Invasie geïnduceerd door gemcitabine in alvleeskliertumoren

DEC nummer: 2014.III.03.034

Intravitale beeldvorming van invasie van tumorcellen in muizen met alvleeskliertumoren

Achtergrond: Alvleesklierkanker is een dodelijke ziekte. Maar 5% van de patiënten die met deze ziekte gediagnostiseerd worden leeft nog 5 jaar na de diagnose. Behandelingen zorgen ervoor dat de overleving van patiënten waarbij verwijdering van de tumor heeft plaatsgevonden, met een paar maanden toeneemt na behandeling met gemcitabine chemotherapie. In de afgelopen jaren zijn verschillende medicijnen getest om patiënten te behandelen en hiermee de levensduur van patiënten, die bereikt kan worden met gemcitabine, te vergroten. Het doel van adjuvante chemotherapie is het verwijderen van tumorcellen die na de operatie zijn overgebleven of door het lichaam circuleren. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is een proces waarbij epitheel cellen veranderingen ondergaan en het gedrag gaan vertonen van mesenchymale cellen. Het wordt gesuggereerd dat dit proces een rol kan spelen bij invasie van tumor cellen tijdens metastase. Het succes van adjuvante chemotherapie kan gelimiteerd worden doordat deze voornamelijk delende cellen doden waar circulerende cellen niet delen.

Recentelijk is aangetoond dat behandeling van colorectale tumorcellen met chemotherapie resulteerde in een toename van beweging en invasie van de tumor cellen. Dit ging gepaard met een verhoogde expressie van het eiwit AXL. Overexpressie van AXL in alvleesklierkanker zorgt voor een toename van invasie en beweging in alvleesklierkanker en heeft een nadelige uitwerking op de prognose van alvleesklierkanker. In een muis model voor pancreaskanker hebben we aangetoond dat gemcitabine behandeling een verandering in de tumorcellen te weeg brengt. Dit zorgt ervoor dat tumorcellen er uit gaan zien als mesenchymale cellen. Hieraan is niet te zien of cellen hierdoor ook meer gaan bewegen en het gezonde weefsel kunnen binnendringen. Om dit te kunnen onderzoeken hebben we een muismodel gecreëerd waarbij de tumor cellen fluorescent gelabeld zijn. Doel/hypothese: we willen graag onderzoeken of het mesenchymale uiterlijk van tumorcellen wat veroorzaakt wordt door gemcitabine behandeling een toename van invasie en beweging tot gevolg heeft. We willen daarom muizen met fluorescent gelabelde alvleeskliertumoren die behandeld zijn met gemcitabine in beeld brengen door gebruik te maken van beeldvorming van organen in levende muizen met behulp van een microscoop. Globale aanpak vraagstelling: We zullen een pilot experiment uitvoeren waarbij we drie muizen per groep zullen hanteren. We gebruiken de volgende groepen: Behandeling met vehicle, behandeling met een gift gemcitabine en behandeling met meerdere giften gemcitabine (we weten niet of invasie door gemcitabine een proces is wat over langere tijd geïnduceerd wordt of bij een gift al zichtbaar is). De vraag die we ons hierbij zullen stellen is: Kunnen

we door gebruik te maken van intravitale beeldvorming migratie geïnduceerd door gemcitabine in beeld brengen en hierbij ook inzicht krijgen hoe migratie in muizen met alvleesklier tumoren eruit ziet.

Titel studie: Real-Time Simultaneous Imaging of Doxorubicin Release from Thermosensitive Liposomes using Fibered Confocal Fluorescence Microscopy and MR-guided HIFU

DEC nummer: 2014.III.03.035

Realtime simultaan waarnemen van doxorubicine afgifte uit temperatuur gevoelige nanodeeltjes met behulp van fiber gebaseerde fluorescentie microscopie en MR-gestuurde HIFU

Achtergrond: Doxorubicine, ook wel bekend als Adriamycin, is een antibioticum dat vaak wordt gebruikt bij de bestrijding van kanker. De drug bindt aan het DNA waardoor DNA-replicatie wordt gehinderd en de cel sterft. Hierbij wordt alleen geen onderscheidt gemaakt tussen tumor weefsel en gezonde weefsels, zoals het hart. Een recent ontwikkeld nanodeeltje, Thermodox®, kan gebruikt worden om toxische medicijnen, zoals doxorubicine, lokaal af te geven. Thermodox is gebaseerd op een temperatuur gevoelig liposoom, en laat boven een bepaalde temperatuur zijn lading, doxorubicine, vrij. Een combinatie van MRI en High Intensity Focused Ultrasound (HIFU), stelt ons in staat om niet invasief, plaatselijk de temperatuur te verhogen. Zodoende komt het geneesmiddel alleen vrij bij de tumor, wat de algehele toxiciteit verlaagt en de therapeutische efficiëntie

verhoogt. Er is een vermoeden dat een ongelijke verdeling van geneesmiddel in de tumor samenhangt met het overleven van kankercellen die een te lage dosis krijgen. Wanneer we de verspreiding van de drug in de tumor in real-time kunnen vastleggen, geeft dit nieuwe informatie die zal helpen bij het formuleren van geoptimaliseerde nanodeeltjes en bij het bepalen van een effectieve manier van verhitten.

Doel/hypothese: Fluorescentie microscopie kan, dankzij de autofluorescentie van Doxorubicine, worden gebruikt om de verdeling van dit geneesmiddel in de tumor micro-omgeving te bestuderen. Er zijn onderzoeken waarbij gebruik gemaakt wordt van knaagdieren met een zeer invasieve huidplooi-kamer op de rug. Echter, in deze studie willen we de haalbaarheid om de verspreiding van doxorubicine te bestuderen met glas-Fiber Confocale Fluorescentie Microscopie (FCFM) onderzoeken. Deze techniek is veel minder invasief, want het tumor weefsel is nu toegankelijk via een klein sneetje in de huid waardoor een dunne bundel glasvezels wordt geplaatst. Daarnaast kunnen er met FCFM opnames worden gemaakt met een frequentie van 8.5 beelden per seconde waardoor het de verspreiding van het medicijn vanuit de bloedvaten gevolgd kan worden. De afgifte is gebaseerd op warmte: eerst zal de haalbaarheid van deze techniek daarom worden bestudeerd in een waterbad, daarna zal verhitting met MR-gestuurde HIFU worden gebruikt. De laatste stap maakt integratie van FCFM in de MR-omgeving nodig, iets wat voor zover wij weten ook nog niet is gedemonstreerd. Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek is onderverdeeld in twee fases: 1) observeren van medicijn afgifte gestimuleerd door een verwarmd waterbad en 2) obser-

veren van gestimuleerde geneesmiddelen afgifte, gebruik makende van HIFU in een MR systeem. In elke fase zit een groep waarbij het geneesmiddel wordt toegediend en een controle groep om het signaal van de achtergrond te kunnen onderscheiden van het geneesmiddel. De beoordeling van de drug verdeling moet in vivo plaats vinden in de tumor micro omgeving om dicht bij de fysiologische omstandigheden van de tumor te komen. Hierdoor kunnen problemen als fluorescentie van weefsel, beweging in het beeldveld en de algehele stabiliteit van de set-up worden geëvalueerd. Deze parameters moeten worden beschouwd bij realistische omstandigheden welke bij voorafgaande in vitro experimenten ontbraken. Daarom kan dit onderzoek niet in vitro worden uitgevoerd. Voor dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van dieren (ratten) die worden voorzien van een tumor. Deze tumor wordt subcutaan geïmplant. Gedurende het experiment wordt het dier onder narcose gehouden en direct na de meting getermineerd, waarmee het ongerief voor het dier zo laag mogelijk wordt gehouden.

Titel studie: Irreversibele electroporese van het pancreas van het varken

DEC nummer: 2014.III.03.036

Lokale verbranding van de alvleeskliertumor

Achtergrond: In Nederland zijn er jaarlijks 800 nieuwe patiënten met alvleesklierkanker, bij wie de tumor is doorgesloei buiten de alvleesklier rondom belangrijke bloedvaten en/of de twaalfvingerige darm waardoor een operatie niet meer mogelijk is. Alternatieve behandelingen, zoals chemo- en radiotherapie geven slechts een

minimale verlenging van de levensduur (gemiddeld 2 a 3 maanden). Deze specifieke patiëntengroep is de afgelopen jaren sterk in aantal toegenomen en de behoefte aan een behandeling met een aanzienlijke verlenging van leven is groot. Irreversibele electroporatie (IRE) is een techniek waarbij een elektrisch shock wordt toegediend aan de tumor in de alvleesklier, door twee peddels (kleine ijzeren platen) aan weerszijde van de alvleeskliertumor te plaatsen. Door de peddels wordt stroom gevoerd dat leidt tot een elektrische shock, waardoor de tumorcellen tussen de twee platen vernietigd worden. Eerdere onderzoeken hebben aangetoond dat IRE een bruikbare en veilige methode is voor alvleesklierkanker en de levensduur kan verlengen. In het UMC Utrecht zijn twee eerdere onderzoeken verricht in dieren, waarbij we hebben aangetoond dat de tumorcellen in het behandelde weefsel volledig zijn vernietigd. Het is van groot belang om voor patiënten met een lokaal doorgesloei alvleeskliertumor nieuwe behandelingen te ontwikkelen die hun overlevingskansen vergroten.

Doel/hypothese: Vaststellen bij welke stroomsterkte (hoeveelheid elektrische stroom) onherstelbare schade van de alvleeskliertumorcellen optreedt en de cellen daardoor vernietigd worden.

Globale aanpak vraagstelling: Uit eerdere studies blijkt dat de vernietiging van de tumorcellen door IRE pas optreedt enkele uren na het toedienen van de elektrische shock. Dit proces doet zich alleen voor in levend weefsel en duurt ongeveer 5-6 uur. Om die reden kan er alleen maar gebruik worden gemaakt van levende proefdieren. Het doel van dit onderzoek is vast te stellen bij welke stroomsterkte (kracht van de shock) permanente vernietiging

van de behandelde tumorcellen optreedt. Aan de hand van eerdere studies hebben we 3 verschillende stroomsterkten vastgesteld, die we gaan testen, om vervolgens te bepalen bij welke waarden er onherstelbare schade optreedt en de tumorcellen dood gaan. De proefdieren die we voor deze testen gebruiken, zijn varkens. Zij hebben een vergelijkbare anatomie van het spijsverteringskanaal met die van de mens. De proefdieren zullen een buikoperatie ondergaan, waarna de alvleesklier door de chirurg wordt opgezocht. Vervolgens worden de ijzeren platen aan weerszijde van de tumor geplaatst en wordt een shock toegediend. Zoals hierboven beschreven is het van belang dat de proefdieren na de shock nog minstens 6 uur in leven worden gehouden. Na die periode wordt de alvleesklier verwijderd. Gedurende het gehele onderzoek zijn de varkens onder narcose en na het verwijderen van de alvleesklier worden de dieren direct geëuthanaseerd, onder narcose. De alvleesklier wordt vervolgens door een patholoog beoordeeld. Hij/zij zal vaststellen hoeveel percentage van de tumorcellen vernietigd is. Aan de hand van die uitkomsten kan een uitspraak gedaan worden over de optimale stroomsterkte.

Vergadering 23 april 2014

Titel studie: Vorming van een gel voor afgifte van siRNA na intratumorale injectie

DEC nummer: 2014.III.04.037

Gecontroleerde afgifte van therapeutisch genetisch materiaal voor de behandeling van kanker

Achtergrond: Kleine stukjes synthetisch genetisch materiaal (siRNA) kunnen ingezet worden om de aanmaak van specifieke eiwitten te remmen. Op deze manier kunnen eiwitten in tumorcellen geremd worden en daarmee ook de groei van een tumor. Als siRNA intraveneus toegediend wordt verdwijnt het snel uit de bloedbaan doordat de kleine moleculen worden geklaard door de nier en tevens worden afgebroken in de bloedbaan. Een strategie om siRNA efficiënt en langdurig af te leveren is door het toe te dienen in een depot vorm. Hiervoor kan een vloeibaar mengsel gebruikt worden dat na toediening een gel vormt en geleidelijk het siRNA aan de tumorcellen afgeeft.

Doel/hypothese: Het hoofddoel van de studie is het ontwikkelen van een depot formulering (gel) voor de gecontroleerde afgifte van siRNA voor de behandeling van kanker. Het hoofddoel wordt bereikt door het bepalen van: 1) De vorming van de gel na intratumorale injectie. 2) De weefselverdeling van siRNA na afgifte uit de gel. 3) Therapeutisch anti-kanker effect van siRNA na afgifte uit de gel.

Globale aanpak vraagstelling: Deze studie bestaat uit 3 opeenvolgende experimenten voor de ontwikkeling van

een depot formulering voor de gecontroleerde afgifte van siRNA gericht tegen eiwitten betrokken bij de ontwikkeling van tumoren. In de eerste studie wordt bepaald of gelvorming plaatsvindt na intratumorale injectie. In de tweede studie wordt de weefselverdeling van siRNA na afgifte uit de gel bepaald. In de derde studie wordt het anti-kanker effect onderzocht van de depot formulering dat therapeutisch siRNA bevat. Ondanks technologische vooruitgang zijn er momenteel (nog) geen goede alternatieven om gelvorming, weefselverdeling en therapeutisch effect van de depot formulering te bestuderen. Aangezien dit cruciale aspecten zijn van de depot formulering karakterisering zijn proefdieren nodig om dit te onderzoeken.

Titel studie: Force en pressureplate analyse bij het warmbloedveulen

DEC nummer: 2014.III.04.038

Force en pressureplate analyse bij het warmbloedveulen

Achtergrond: Osteochondrose is de belangrijkste ontwikkelingsstoornis van het skelet bij dieren en komt o.a. voor bij paarden, varkens en honden. Osteochondrose is een multifactorieel probleem, waarbij genetica, voeding en biomechanische belasting een rol spelen in het uiteindelijke ziektebeeld. Wat verder bijzonder is bij dit probleem is dat het alleen voorkomt in bepaalde gewrichten op bepaalde plekken.

Doel/hypothese: Dat biomechanica een rol speelt bij het ontstaan van osteochondrose is inmiddels geaccepteerd in de literatuur, maar de precieze rol is nog steeds onduidelijk. Hierbij is het van belang dat er betrouwbare

gegevens bekend zijn van de belasting van het achterbeen van het veulen, daar die nog niet beschreven zijn in de literatuur. Door middel van force en pressureplate onderzoek (het laten lopen van veulens over een meetmat), kunnen deze gegevens bepaald worden.

Globale aanpak vraagstelling: Veulens zullen op vastgestelde momenten tijdens het eerste half jaar van hun leven over een pressure meet mat geleid worden om de belasting van hun achterbenen t.o.v. hun lichaamsgewicht te kunnen bepalen. Verder zullen er röntgenfoto's gemaakt worden van hun achterbenen om na te gaan of de veulens osteochondrose hebben of niet. Naast een beschrijvend artikel over de belasting van het achterbeen bij opgroeiende veulens zullen de verkregen gegevens gebruikt worden voor het bouwen van een biomechanisch model van het hakgewricht bij het paard. Omdat het hier gaat om het in beeld brengen van de natuurlijke beweging van dieren is het noodzakelijk om het onderzoek uit te voeren bij dieren.

Titel studie: Fok COMMD1 deficiënte honden

DEC nummer: 2014.III.04.039

Fok COMMD1 deficiënte honden

Honden met een defect in het COMMD1 gen hebben een stoornis in de koperstofwisseling, een ziekte die bij honden vaak voorkomt. Door dit gendefect gaan ze koper stapelen in de levercellen, wat vergelijkbaar is met de ziekte van Wilson bij de mens. De levercellen raken door de opeenhoping van koper beschadigd en op termijn resulteert dit in leverontsteking en bindweefselvorming. Dit proces kan worden voorkomen door aan lijders aan

dit gendefect penicillamine te geven, wat het koper wegvangt. COMMD1 deficiënte honden zijn een interessant ziektemodel voor diverse stofwisselingsziekten zoals die ook humaan voorkomen. Nieuwe therapieën voor dergelijke ziekten, zoals stamceltherapie, kunnen in COMMD1 deficiënte honden worden getest met grote voorspellen-de waarde voor klinische toepassing bij humane patiënten. Een tweede belangrijk doel is verder onderzoek naar de mechanismen van koperstofwisseling en mogelijkheden om daar met medicijnen op aan te grijpen. Dit kan worden onderzocht door COMMD1 deficiënte levercellen in kweek te onderzoeken ('disease modeling').

Titel studie: Pilot: gelMA scaffold fixation in cartilage defects

DEC nummer: 2014.III.04.040

De fixatie van een hydrogel in een kraakbeendefect

Achtergrond: Kleine kraakbeendefecten bij jonge patiënten kunnen worden hersteld middels een celimplantatie. De cellen worden geïmplanteerd in een hydrogel. De huidige hydrogel is niet optimaal omdat het niet vormstabiel is en snel oplost. Later dit jaar willen we daarom een studie uitvoeren bij paarden waarbij we kraakbeendefecten herstellen met behulp van een nieuwe hydrogel. Het doel van deze studie is dus om hydrogellen te verbeteren voor celimplantatie in kraakbeendefecten in de knie. Het type cellen dat we gebruiken in de paardenstudie worden reeds in mensen toegepast in een klinische studie.

Doel/hypothese: Voordat we de paardenstudie willen uitvoeren moeten we zeker weten dat de nieuwe hydrogel niet loslaat. Daarom willen we in deze studie de fixatie van de hydrogel bestuderen in 1 paard.

Globale aanpak vraagstelling: De celimplantatie met de nieuwe hydrogel zal worden uitgevoerd op 1 paard. Dit betreft een paard dat voor studiedoeleinden voor diergeneeskundestudenten reeds geëuthanaseerd gaat worden. Twee kraakbeendefecten worden gemaakt in beide knieën van het proefdier. De hydrogel (waar de cellen in zitten) wordt vervolgens geïmplanteerd in deze defecten. Na drie weken zullen we de knieën weer openen en beoordelen of de hydrogel nog in het kraakbeendefect zit, zoals we het hadden geplaatst. Als de hydrogellen niet goed vastzitten zouden ze vrij kunnen komen in het gewricht. In dat geval zullen we lege defecten aantreffen.

Titel studie: Renal-specific targeted nanosystems in unilateral ureteral obstruction model

DEC nummer: 2014.III.04.041

Nier-specifiek gericht systeem tegen nierziekte

Achtergrond: Chronische nierziekte is een wereldwijd gezondheidsprobleem. Naast nierfunctie vervangende therapie, is hiervoor geen curatieve behandeling beschikbaar. Belangrijke diagnostische parameters voor nierbeschadigingen zijn bepaling van eiwit en creatinine in urine. Daarnaast kan de mate van nierziekte alleen beoordeeld worden middels een renale biopsie. Er is een duidelijke behoefte aan niet-invasieve diagnostiek en effectieve therapieën voor nierziekte. Dit project richt zicht

op de ontwikkeling van een nieuw nier-specifiek targeting systeem met zowel diagnostische als therapeutische capaciteiten. In dit project wordt gebruik gemaakt van een peptide voor de specifieke targeting van diagnostisch middelen of geneesmiddelen naar de nier. Hierdoor kan dit systeem verschillende diagnostische en therapeutische middelen aan de targetcellen leveren waardoor zowel de progressie van het nierfalen gevolgd kan worden als een therapeutische effect gerealiseerd kan worden. Het onderzoek is vooral gericht op de specifieke accumulatie van gerichte middelen door de nier in een ureter obstructie muismodel.

Doel/hypothese: Het doel van dit project is het nier-specifieke systeem in het ureter obstructie muismodel te onderzoeken.

Globale aanpak vraagstelling: Het onderzoek zal als volgt worden aangepakt: Er zal gebruik worden gemaakt van muizen voor het ureter obstructie model. De muizen zullen worden geopereerd om nierziekte te induceren in de linker nier. De muizen zullen gecontroleerd worden op gezondheid. 3 en 7 dagen na de operatie zullen de muizen worden behandeld met verschillende gerichte systemen. In het experiment zal er onderzocht worden welk systeem het beste in de nier accumuleert. In het volgende experiment zullen muizen behandeld worden met peptide gemodificeerde middelen. Met gebruik van histologie zal de specifieke accumulatie in de target cellen binnen nier onderzocht worden. Dit nieuwe systeem kan gebruikt worden om nieuwe diagnostische en therapeutische behandelingen voor nierziekten te ontwikkelen. De ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen tegen nierziekte is zeer belangrijk, wereldwijd zouden er veel mensen van

kunnen profiteren. Om de nier-specifieke accumulatie van het ontwikkelde systeem te onderzoeken, zijn dierexperimenten cruciaal en onvermijdbaar.

Titel studie: Rol van CXCL12, IL-7 en TSLP in B-ALL Effect van KD op migratie/groei/differentiatie

DEC nummer: 2014.III.04.043

Het bepalen van de in vivo rol van het door beenmergcellen geproduceerde factoren in het ondersteunen van de groei van pediatrische acute lymfoblastische B cel leukemie en bloed stamcellen

Achtergrond: Acute lymfoblastische leukemie (ALL), is een kanker van het bloed en beenmerg die wordt gekenmerkt door een overproductie van onrijpe B- en T-lymfocyten, de zogenoemde lymfoblasten. Acute lymfoblastische B cel leukemie (B-ALL) is de meest voorkomende kanker in kinderen. Ondanks verbeteringen in de behandeling is terugval na behandeling voor ALL de meest voorkomende oorzaak van kanker-gerelateerde dood in kinderen en jong-volwassenen. Experimenten in reageerbuizen hebben aangetoond dat beenmergcellen mogelijk een rol kunnen spelen in de groei 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. De productie van verschillende stoffen (zoals VCAM-1, IL7, TSLP en CXCL12) door de beenmergcellen lijkt hier een belangrijke rol in te kunnen spelen. Echter, de exacte rol van deze door

beenmergcellen geproduceerde stoffen in de groei van B-ALL cellen in het lichaam van een individu met B-ALL is onbekend. Daarom willen wij in deze studie met behulp van een door ons nieuw ontwikkeld proefdier model dat het menselijk beenmerg nabootst in een muis, de rol van deze stoffen in groei van B-ALL cellen bestuderen en daarnaast bepalen of ze een even belangrijke rol spelen in de groei van normale bloed stamcellen.

Doel/hypothese: Aangezien het door beenmergcellen geproduceerde factoren een belangrijke rol spelen in de in vitro migratie en groei van B-ALL cellen en bloed stamcellen, verwachten wij dat deze factoren cruciaal zijn voor de migratie en groei van deze cellen in het lichaam van patiënten/normale individuen. Dit onderzoeksvoorstel heeft tot doel om te bestuderen of deze door beenmergcellen geproduceerde factoren inderdaad een rol kunnen spelen in de in vivo groei van B-ALL cellen en welke van deze factoren hiervoor het belangrijkste is/zijn. Globale aanpak vraagstelling: De interactie tussen van patiënten afgenomen leukemiecellen en beenmergcellen blijken nauwelijks of niet in het laboratorium te bestuderen te zijn hetgeen het bestuderen van specifieke groei-eigenschappen en gevoeligheid voor nieuw te ontwikkelen therapieën ernstig bemoeilijkt. Het speciaal door ons ontwikkelde 'gehumaniseerde' of vermenselijkt muismodel maakt het wél mogelijk om de gewenste studies te doen. Hiertoe wordt er eerst in een muis een menselijke bot-omgeving gecreëerd door implantatie van een scaffold die bezaaid is met botvormende menselijke stamcellen. In de muis ontwikkelt zich dan menselijk bot met daarop beenmergcellen die bloedcel groei kunnen beïnvloeden. Hierop kunnen vervolgens ingespoten

bloed stamcellen (hetzij normaal of leukemisch) zich vestigen en daarna normale of abnormale bloedcellen gaan produceren. Dit biedt ons vervolgens de mogelijkheid om de biologische processen die deze stamcelgroei reguleren, in een 'natuurlijke omgeving' te bestuderen en mede daardoor nieuwe vormen/middelen van therapie te ontwikkelen. Gelet op de bijzondere omstandigheid dat een beenmergomgeving niet in vitro is na te bootsen, is het niet mogelijk om zonder het gebruik van proefdieren (in dit geval muizen) deze noodzakelijke experimenten uit te voeren.

Titel studie: Can the TRH stimulation test be used in the diagnosis of pituitary-dependent hypercortisolism in dogs?

DEC nummer: 2014.III.04.044

Kan de TRH (thyrotropin-releasing hormone) stimulatie test gebruikt worden in de diagnose van hypofyse afhankelijke hypercortisolisme bij de hond?

Achtergrond: Hypofyse afhankelijke hypercortisolisme (ziekte van Cushing) is de meest voorkomende endocriene aandoening bij de middelbare en oudere hond. Het is niet altijd makkelijk om de diagnose te stellen. Bij oudere paarden en pony's komt de ziekte van Cushing ook vaak voor. De diagnose wordt bij deze dieren vaak gesteld door het doen van een TRH stimulatietest. TRH staat voor thyrotropin releasing hormone en is een hormoon afkomstig uit de hypothalamus dat vooral de afgifte van het schildklier-stimulerend hormoon TSH (thyrotropin) reguleert. In paarden met de ziekte van Cushing treedt er echter ook een significante stijging op van de plasma

concentraties van het bijnierschors-stimulerend hormoon (ACTH) en het bijnierschors-hormoon cortisol na toediening van TRH. Een vergelijkbaar fenomeen wordt gezien bij sommige (maar niet alle) mensen met de ziekte van Cushing. De vraag is of de TRH stimulatie test bij honden gebruikt kan worden om de ziekte van Cushing te diagnosticeren.

Doel/hypothese: De hypothese is dat TRH toediening niet leidt tot een significante stijging van de plasma concentraties van ACTH en cortisol bij gezonde honden, maar wel bij (sommige) honden met hypofyse-afhankelijk hypercortisolisme.

Globale aanpak vraagstelling: Bij 10 honden zonder de ziekte van Cushing zal de TRH stimulatie test worden uitgevoerd. Op verschillende tijden voor en na toediening van TRH zal bloed worden afgenomen. In het bloed worden de gehalten aan plasma cortisol en ACTH gemeten om te kijken of er een significante stijging optreedt na toediening van TRH.

Titel studie: Validatie en evaluatie van de bloedsucrose-test ter nadere diagnostiek van maagzweren bij het paard

DEC nummer: 2014.III.04.046

Validatie en evaluatie van de bloedsucrose-test ter nadere diagnostiek van maagzweren bij het paard

Achtergrond: Maagzweren worden regelmatig vastgesteld bij veulens en volwassen paarden van nagenoeg alle rassen en kunnen leiden tot gebrek aan eetlust, gewichtsverlies, lustloosheid, koliek en verminderd presteren. Omgekeerd worden maagzweren gezien als een

indicatie voor verminderd welzijn. Momenteel is de enige nauwkeurige methode voor het opsporen en monitoren van maagzweren bij paarden zogenoemde gastroscopie middels het inbrengen van een endoscoop via de neus na een lichte roes. Het blijkt mogelijk met behulp van de bloedsucrose-test maagzweren aan te tonen bij diverse paardenrassen. Bij paarden van het meest van belang zijnde paardenras in Nederland te weten de KWPN-ers is dit nog niet eerder onderzocht.

Doel/hypothese: Het doel van dit project is om bij verschillende doseringen de sucrozespiegel in bloed/serum bij KWPN paarden te meten en deze op verschillende wijze te analyseren. Uitgangspunt is om middels gastroscopie vast te stellen of er sprake is van maagzweren. De optimale analysemethode is afhankelijk van de bereikte sucroseconcentratie na 45 minuten. In dit onderzoek moet worden vastgesteld welke dosering van sucrose gebruikt kan worden voor het aantonen van sucrose in bloed via verschillende analytische methode (goedkope methode versus gevalideerde standaard). Om dit te testen worden in deze pilot zowel aan paarden met als zonder maagzweren verschillende doseringen aan sucrose toegediend.

Globale aanpak vraagstelling: Er zijn totaal 18 paarden nodig (6 groepen van 3). Al deze paarden worden als patiënt aangeboden aan paardeninternisten op de verdenking lijdende te zijn aan maagzweren. Het zijn dus zieke paarden van privé-eigenaren, waarvan het de bedoeling is dat zij gastroscopie ondergaan ter eventuele vaststelling van de aanwezigheid van maagzweren. De maagzweren worden ingedeeld in internationale klassen (0-3). In aansluiting op de gastroscopie wordt er sucrose

via een neussonde in de maag toegediend in 3 verschillende hoeveelheden. Uiteindelijk zijn er 6 groepen van elk 3 dieren (te weten twee klassen met ulcer gradaties 0 ofwel 2/3 en 3 doseringen sucrose). Voorafgaand aan de sucrose toediening en op $t = 45$ zullen bloedmonsters genomen worden.

Titel studie: Inflammatie en karakterisering van humane IAPP transgene pancreaseilandjes, ex vivo en in vivo studies

DEC nummer: 2014.III.04.047

Chronische ontsteking van de pancreaseilandjes bij type 2 diabetes mellitus (ouderdomsdiabetes)

Achtergrond: Type 2 diabetes mellitus (ouderdomssuikerziekte) is een chronische ziekte, met verschillende, ernstige complicaties. Het is een van de belangrijkste oorzaken voor hart- en vaatziekten, waar ongeveer 75% van deze patiënten aan overlijdt. De ziekte kan wel worden behandeld, maar (nog) niet genezen. Op weefselniveau wordt type 2 diabetes gekenmerkt door eiwitafzettingen in de eilandjes van Langerhans in de alvleesklier. De bouwsteen van dit 'eilandjesamyloid' is het eiwit IAPP (islet amyloid polypeptide) dat door de eilandjes bètacellen (die ook insuline maken) wordt geproduceerd. Vorming van eilandjesamyloid is geassocieerd met dood van bèta cellen en het ontstaan van een insuline tekort.

Doel/hypothese: Eilandjesamyloidose, door aggregatie van het IAPP eiwit, komt voor bij 80-90 % van de patiënten met ouderdomsdiabetes en is dus een gemeenschappelijke diabetogene factor in deze heterogene ziekte. Door de schadelijke effecten van eilandjesamyloidose

te remmen kan de insulineproductie (langer) gehandhaafd worden en progressie van de ziekte, alsmede het optreden van de vele, ernstige complicaties, worden voorkomen of althans uitgesteld. Uit eerder onderzoek hebben we aanwijzingen verkregen dat aggregatie van het menselijke IAPP eiwit een chronische ontsteking van de pancreaseilandjes kan veroorzaken. Dit is aangetoond door kwantificering van mRNA in pancreaseilandjes van hIAPP transgene muizen en van niet-transgene wild-type muizen (=controle), waarbij bleek dat inflammatie-gerelateerde genen verhoogd tot expressie komen in de hIAPP transgene eilandjes. In dit project willen we dat nader onderzoeken middels een drietal experimentele benaderingen.

Globale aanpak vraagstelling: Type 2 diabetes mellitus is een complexe, multifactoriële ziekte die verschillende organen betreft. In de alvleesklier is amyloidvorming geassocieerd met een verminderde insuline productie. De rol van verschillende genen/eiwitten in het proces van amyloidvorming in de eilandjes van Langerhans, en de consequentie voor het glucose metabolisme, kan alleen in een intact dier en op langere termijn goed onderzocht worden. Daarom hebben we een muismodel voor type 2 diabetes mellitus ontwikkeld, waarbij menselijk IAPP in de pancreas eiland bèta cellen wordt gemaakt, leidend tot amyloidvorming. Bij dit onderzoek zijn recent aanwijzingen gevonden voor de betrokkenheid van inflammatie (ontsteking) in de pancreaseilandjes, geïnduceerd door menselijk IAPP. Echter, dit betrof enkel het aantonen van verhoogde mRNA concentraties van inflammatie genen, dus een associatie. Om het experimentele bewijs hiervoor te leveren, en dus een causale relatie aan te tonen,

willen we 2 soorten in vivo experimenten doen: 1) eiland inflammatie in hIAPP en wildtype muizen induceren middels toediening van Streptozotocine (werkprotocol C1) en 2) pancreaseilandjes uit onze hIAPP transgene en wildtype muizen isoleren (werkprotocol C2) ter nadere karakterisering (proteomics en lipidomics) en vervolgens 3) deze C57Bl6 eilandjes transplanteren onder het nierkapsel van BALB/c muizen, alsmede van C57Bl6 muizen (werkprotocol 3). Bij studie 2 kijken we naar veranderingen in genexpressie op eiwitniveau (fysiologisch relevanter dan mRNA levels) en naar 'lipid mediators of inflammation', terwijl studie 1 en 3 een verschil in gevoeligheid voor inflammatie kunnen aantonen.

Vergadering 21 mei 2014

Titel studie: Lokale productie van cortisol in het subchondrale bot en de invloed van artrose gerelateerde bot veranderingen

DEC nummer: 2014.III.05.049

Een studie naar de omzetting van steroïde-hormonen in de knie als gevolg van gewrichtsslijtage

Achtergrond: Vanuit studies bij de mens weten we dat het langdurig gebruik van ontstekingsremmende steroïde-hormonen (corticosteroïden) schade veroorzaakt in het gewricht. Deze stof wordt op dit moment gebruikt om de pijn te verminderen en de ontsteking van het gewricht te onderdrukken. Daarnaast weten we dat deze stof ook door het lichaam zelf gemaakt wordt en dat deze naar een plek in het lichaam wordt gebracht waar de stof nodig is. De werkzame stof van dit steroïde-hormoon in het lichaam is cortisol, dit heeft effect op de nieuwvorming van bot en kan de ontsteking doen verminderen in een gewricht. Of het cortisol in het gewricht zelf ook gemaakt kan worden en of dit eventueel veranderd bij artrose is tot op heden onbekend.

Doel/hypothese: In dit experiment willen we in vivo kijken of er ter plaatse van de knie corticosteroïden geproduceerd worden en of deze productie anders is bij artrotische gewrichten.

Globale aanpak vraagstelling: Om dit te kunnen onderzoeken wordt er gestart met een Groove operatie bij alle ratten waarbij een kras wordt gezet in het kraakbeen. De andere knie zal geen operatie ondergaan en zal dienen

als controle knie. Voor een periode van 6 of 12 weken gaan we kijken of er corticosteroiden geproduceerd worden in het knie gewricht. Daarnaast willen we weten of dit beïnvloedt wordt door artrotische veranderingen als gevolg van de Groove operatie. 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: Evaluation of peptides-loaded PLGA nanoparticles in breast tumor model

DEC nummer: 2014.III.05.050

Targeting van therapeutische peptiden naar tumoren met PLGA nanodeeltjes

Achtergrond: Uitgezaaide borstkanker is een van de grootste oorzaken van mortaliteit. Ontregeling van mechanismen die normaal leiden tot celdood van abnormale cellen speelt een belangrijke rol in de ontwikkeling van de kwaadaardigheid van kanker en resistentie tegen chemotherapie. Daarom is targeting van de celdood signaleringspaden een aantrekkelijke strategie om kanker te overwinnen. Ons doel is om primaire tumorgroei te remmen, en daarmee dus ook de uitzaaiing naar andere plaatsen in het lichaam. Om dit doel te bereiken, zijn de therapeutische peptiden (kleine eiwitten) een veelbelovend werktuig om de celdood van kankercellen te starten op een specifieke en doelgerichte manier. Deze studie is opgezet om de verdeling in het lichaam, verwerking in het lichaam en antitumor werkzaamheid van kleine eiwitten gekoppeld aan een drager van polymeren (PNPs)

te onderzoeken in een borsttumormodel. Hiervoor zullen wij drie strategieën toepassen: 1) inductie van celdood in kankercellen gebruikmakend van de gekoppelde therapeutische peptide PNPs, 2) het remmen van tumor-initiërende signaleringspaden gebruikmakend van PNPs met het therapeutische eiwit Interferon-gamma en 3) onderzoeken of combinaties PNPs met onze therapeutische peptiden en medicijnen die op het moment in de kliniek worden gebruikt een synergistisch therapeutische werkzaamheid laten zien om kanker te behandelen.

Doel/hypothese: Onze hypothese is dat bij het doelgericht afgeven aan tumoren van PNPs met therapeutische peptiden we de tumorgroei kunnen remmen en de werkzaamheid van chemotherapie kunnen verbeteren. Globale aanpak vraagstelling: Kanker is een van de grootste gezondheidsproblemen wereldwijd. De actuele chemotherapie is niet voldoende om tumoren te vernietigen en patiënten ontwikkelen vaak chemoresistentie. Daarom is de ontwikkeling van veilige en effectieve antitumorthapieën van groot belang. We hebben voor therapeutische peptiden een nieuw afleversysteem ontwikkeld dat antitumor effecten laat zien in celkweken. Bij gebrek aan alternatieven zoals celkweken of wiskundige modellen moeten we gebruik maken van diermodellen om de effectiviteit in het lichaam te meten. In deze diermodellen willen we de verwerking van het geneesmiddel, de verdeling in het lichaam en de werkzaamheid van targeting van deze componenten nabootsen in dit ingewikkelde systeem van tumorcellen en andere cellen die we targeten. Daarom zijn diermodellen zeer essentieel voor onze studie. Uit ervaring van eerdere experimenten weten we dat de dieren niet lijden onder deze experimenten. We

werken strikt volgens de richtlijnen van kankeronderzoek. Het onderzoek zal als volgt worden uitgevoerd: Proefdieren die we gebruiken zijn vrouwtjes Balb/c muizen. Deze muizen zullen worden geïnjecteerd met tumorcellen, waarna ze worden behandeld met medicijnen. Muizen behandeld met fysiologisch zout worden als de controle groep gebruikt. De grootte van de tumoren zal worden gemeten en aan het einde van de studie of als een van de tumoren groter is dan 1000mm³ of uit de huid komen, dan zullen de dieren worden doodgemaakt. Daarna zal het effect van de medicijnen en de verdeling hiervan worden onderzocht. Eerst zullen we verdeling van het medicijn in het lichaam en de verwerking in het lichaam van het medicijn in de PNP's onderzoeken. Hierna zullen we de effectiviteit van de PNP's met gekoppelde eiwitten alleen en in combinatie met de actuele medicijnen onderzoeken in een borsttumor muismodel.

Titel studie: Evaluation of Ultrasound/ photoacoustic based in-vivo imaging for the diagnosis of liver fibrosis

DEC nummer: 2014.III.05.051

Niet-invasieve (en niet-pijnlijk) beeldvorming voor diagnose van leverfibrose

Achtergrond: Leverschade is een mondiaal gezondheidsprobleem dat miljoenen mensen raakt. Voor een effectieve behandeling is allereerst een nauwkeurige afschatting van de hoeveelheid fibrose van belang om inzicht te krijgen in de toestand en prognose van de ziekte. Het nemen van een leverbiopt geldt momenteel als de gouden standaard voor het beoordelen van de mate van

fibrose. Er kleven wel enkele nadelen aan een leverbiopsie: bemonsteringsfouten, het zeer beperkte bioptvolume en het binnendringend (pijnlijk) karakter van de ingreep. Een reproduceerbare, gevoelige en niet-binnendringend (niet-pijnlijk) test is nodig voor het nauwkeurig bijhouden van de levertoestand, het vaststellen van een behandelingsprogramma en het analyseren van de effectiviteit van de medicatie. Ons voorstel is om gecombineerde ultrasound/fotoakoestiek beeldvorming te gebruiken bij het vaststellen van de hevigheid en het stadium van de leverschade.

Doel/hypothese: Het doel van onze studie is: 1) Om ultrasound/fotoakoestische beeldvorming te evalueren als diagnostisch hulpmiddel voor leverschade (pilot studie). 2) Om het nut van ultrasound/fotoakoestische beeldvorming te bekijken bij het schalen van lever fibrose. 3) Om in-vivo ultrasound/fotoakoestische beeldvorming te onderzoeken voor het analyseren van de progressie van leverfibrose in hetzelfde dier, op verschillende stadia van lever fibrose (voor reproduceerbaarheid).

Globale aanpak vraagstelling: Lever fibrose is een chronische ziekte met uiteindelijk leveruitval en de dood als gevolg. Voor een effectieve behandeling is nauwkeurige classificatie van de leverziekte nodig. De huidige methode, een leverbiopsie, heeft als nadeel dat het binnendringend (pijnlijk) is. Met deze proefdierenstudie hopen wij niet-binnendringend (niet-pijnlijk) ultrasound met fotoakoestiek te gebruiken voor het classificeren van leverfibrose. Deze studie kan niet met celculturen of met computermodellen uitgevoerd worden. De voorgestelde beeldvormingstechniek is niet-invasief, en zal daardoor geen schade aan de dieren toebrengen. We veroorzaken

wel leverschade bij het induceren van leverfibrose met lever toxische drug (CCl4); dit geeft echter niet of nauwelijks mortaliteit. Dit is de meest gebruikelijke manier om leverfibrose in diermodellen te onderzoeken. Opzet van de studie: In deze studie evalueren wij beeldvorming met behulp van ultrasound/fotoakoestiek als diagnostisch hulpmiddel voor het monitoren van de vordering van leverfibrose. Als eerste – in de pilot studie – induceren we 2 weken aan leverfibrose in muizen met tweewekelijkse injecties door de buikwand van hepatotoxische medicatie (CCL4). Daarna scannen we de fibrotische en de gezonde controle dieren met de ultrasound/fotoakoestiek probe. Na de beeldvorming zullen de dieren worden geëuthanaseerd en worden het bloed, lever en andere organen geëxtraheerd voor verdere analyse. In de tweede en derde studies (volgend op een succesvolle pilot studie), monitoren we de staat van leverfibrose in verschillende dieren, met ieder een ander stadium van fibrose; of in hetzelfde dier met toenemend leverfibrose. We dienen CCL4 toe zodat de geïnduceerde leverfibrose op 4 dagen, 4 weken, 6 weken en 12 weken is ten tijden van de metingen met de ultrasound/fotoakoestiek probe. Na de experimenten worden bij deze studies wederom het bloed, de lever en andere organen gebruikt voor verdere analyse. De studies zijn blinde studies: de inductie van leverfibrose wordt door een ander persoon gedaan de leverbeeldvorming, zodat degene die de meting doet niet weet welk dier fibrotisch is en welke gezond. Tevens wordt bij beide studies de interpretatie van de beelden blind gedaan door een derde persoon.

Titel studie: Evaluation of steroids (prednisolone and Dexamethasone)-encapsulated nanoparticles for the treatment of liver fibrosis

DEC nummer: 2014.III.05.052

Evaluatie van nieuwe geneesmiddelen gericht tegen hepatische stellaat cellen en macrofagen in leverfibrose muismodellen

Achtergrond: Leverfibrose is een groeiend gezondheidsprobleem en de 10e oorzaak tot overleiden in de wereld. Tot op heden zijn er geen goede anti-fibrotische geneesmiddelen beschikbaar voor deze chronische ziekte, voornamelijk door een gebrek aan werking of teveel bijwerkingen. Macrofagen en geactiveerde hepatic stellate cellen (HSC's) zijn de belangrijkste effector cellen in de pathogenese en voortgang van leverfibrose. Specifieke geneesmiddelen gericht op één of beide celtypes zou daarom een veelbelovende optie zijn voor de behandeling van leverfibrose. Onder de bestaande diermodellen (BDL, TAA behandeling en vet dieet) is het CCL4 model de meest bestudeerde voor leverfibrose in muizen en ratten. Daarnaast is dit model het beste gekarakteriseerd op basis van histologische, biochemische, cel en moleculaire veranderingen die verbonden zijn met de ontwikkeling van leverfibrose. Steroïden (b.v. prednisolon en dexametason) zijn krachtige geneesmiddelen tegen ontstekingen (o.a. leverfibrose) die voornamelijk macrofagen en HSC als doelwit hebben. Echter, vanwege hun korte halfwaardetijd is de werking in het algemeen onvoldoende. Daarom willen we de bio-distributie en anti-fibrotische (en/of anti-

inflammatoire) effecten van prednisolon-nanodeeltjes en dexametason-nanodeeltjes onderzoeken in vivo in het leverfibrose muismodel.

Doel/hypothese: In dit project, zullen we de bio-verdeling van steroïden (prednisolone en dexamethasone)-nanoparticles in leverfibrose muismodellen onderzoeken. Tevens zullen we de anti-fibrose effecten van steroïden (prednisolone and dexamethasone)-nanoparticles evalueren.

Globale aanpak vraagstelling: Leverfibrose is een chronische ziekte die leidt tot leverschade en uiteindelijk de dood. Door de afwezigheid van klinisch bewezen anti-fibrotische geneesmiddelen is er dringende behoefte aan effectieve geneesmiddelen voor de behandeling van leverziekten, die miljoenen mensen wereldwijd treffen. Steroïden zijn klinisch goedgekeurd voor de behandeling van verschillende ziekten. Daarom kunnen we met deze relevante onderzoeken het effect en de bio-distributie van steroïden-nanodeeltjes onderzoeken, zodat deze in de toekomst kunnen worden gebruikt voor de behandeling van patiënten. Met de diermodellen testen we de cel specificiteit van deze nanodeeltjes en hopen we een oplossing te vinden voor deze dodelijke ziekte. Deze onderzoeken zullen belangrijk zijn, omdat ze de eerste stap zullen zijn voor de ontwikkeling van geneesmiddelen voor leverfibrose. Onze gerichte geneesmiddelen zijn ontworpen om de beoogde cellen te bereiken in het gewenste weefsel (lever) en daar therapeutische effecten te laten zien in specifieke cel types. Wij hebben deze deeltjes ontworpen en getest op effectiviteit in relevante celweeksystemen. Echter, het principe van cel-specifieke targeting kan niet in celweken of computermodellen worden getoond. Om de farmacokinetiek, bio-distributie

en effectiviteit aan te tonen van verschillende deeltjes (individueel of in combinatie) hebben we een complex in vivo systeem nodig. Daarnaast kan de combinatietherapie en de neveneffecten op leverfibrose alleen worden getest in vivo. Daarom zijn dierstudies essentieel voor onze onderzoeken.

Vergadering 18 juni 2014

Titel studie: Fok C57BL/6J-Apc^{Min}/J X C57BL/6j

DEC nummer: 2014.III.06.053

Doel en wetenschappelijk/maatschappelijk belang fok: De fok is bedoeld om de Apc^{min}-/+ lijn in stand te houden. Deze muizen worden vaak gebruikt in onderzoek naar kanker, met name darmkanker, omdat ze een specifieke mutatie in het Apc gen hebben. Dit gen is in humane darmkanker ook vaak gemuteerd. Door deze mutatie ontwikkelen de muizen een groot aantal poliepen in de dunne darm. De dieren die uit deze fok verkregen worden, zullen worden gebruikt om te onderzoeken wat het effect van chromosomale instabiliteit op de ontwikkeling en het verloop van deze tumoren is. Dit zal worden gedaan door deze dieren te kruisen met een model voor chromosomale instabiliteit. Dit onderzoek is relevant omdat chromosomale instabiliteit en de daaropvolgende aneuploidie in een groot deel van de tumoren gevonden wordt; 68% van de solide tumoren in mensen heeft dit fenotype. Het is de vraag of deze chromosomale instabiliteit, een oorzaak is of kan bijdragen aan tumorontwikkeling. Ook willen we onderzoeken of chromosomale instabiliteit kan worden gebruikt als therapeutisch target.

Titel studie: Gedevitaliseerde chondrogeen gedifferentieerde stamcellen voor de behandeling van non-unions ten gevolge van insufficiënte botgenezing

DEC nummer: 2014.III.06.054

Kraakbeenconstructen in gel 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 aanzienlijk ziektecijfer aangezien de patiënt veel pijn ervaart en het been doorgaans niet kan belasten. Er zijn vaak ingewikkelde operaties nodig om alsnog een heling 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 heling is bereikt, alleen een amputatie tot verbetering van de klachten leiden, wat uiteraard invaliderend zal zijn. Om een hogere helingsgraad te bereiken en de voorstelbaarheid van een behandeling te vergroten zijn we op zoek naar betere therapieën. Eén 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 te testen of de behandeling ook werkt als de constructen of cellen in een gel zitten, zodat ze beter op hun plek blijven zitten.

Doel/hypothese: Ontwikkelen van een nieuwe behandelingsmethode 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 leeggelaten wordt en dus resulteert in de vorming van een non-union. Een non-union is een pathologische fractuurgenezing welke wij willen behandelen met vitale kraakbeenconstructen in een gel. Voor het creëren van de non-union nemen we een 6-mm groot bot segment uit het bovenbeen van ratten. Het bovenbeen wordt gefixeerd met een plaat en schroefjes en vervolgens plaatsen we onze kraakbeenconstructen met gel of kraakbeencellen met gel of alleen gel (negatieve controle) op de plaats van het defect. Deze constructen zouden een gezond genezingsproces op gang moeten brengen, het hoofddoel van ons onderzoek. Alle groepen worden na 12 weken gedood. De vascularisatie wordt met een polymeer in kaart gebracht door de bovenbenen te scannen met een micro-CT scan, waardoor we ook de botformatie kunnen beoordelen. Tevens wordt er naar de weefselleer gekeken.

Titel studie: Establishing an in vivo model for tumor suppression with atypical E2F transgenes

DEC nummer: 2014.III.06.055

Ontwikkeling van een diermodel voor het stopzetten van tumorgroei via blokkade van celcyclus-genen

Achtergrond: De juiste regulatie van celdeling of celcyclus is cruciaal voor het behoud van functie van alle weefsels. Afwijkingen in de regulatie kunnen leiden tot meerdere ziekten, zoals tumoren. Recent hebben wij twee eiwitten geïdentificeerd die belangrijk zijn in het afremmen van tumorgroei in de huid en lever. Het is echter nog niet bekend of het verhogen van de concentraties van deze eiwitten tot meer dan normale concentraties als therapie kan dienen om tumorgroei te stoppen.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het genereren en valideren van een transgeen diermodel waar genoemde eiwitten kunnen worden aangeschakeld. Dit betreft een voorstudie om te zien of het model werkt, alvorens we tumorstudies gaan doen.

Globale aanpak vraagstelling: We hebben reeds in gekweekte tumorcellen laten zien dat overexpressie van deze eiwitten de celdeling kan platleggen. Echter, kanker is een complexe ziekte, waarbij de groei van tumorcellen sterk afhangt van processen die plaatsvinden in het omliggende weefsel. Verder staat nog te bezien of normale weefsels bestand zijn tegen overexpressie van deze eiwitten. Daarom moeten we proefdieren gebruiken om te onderzoeken hoe normale weefsels en tumoren reageren op overexpressie van deze eiwitten. Het is belangrijk om de expressie van de eiwitten zo efficiënt mogelijk aan te

schakelen, dit kan alleen worden bereikt door transgene muizen te gebruiken die in elke cel het transgen met zich meedragen.

Vergadering 9 juli 2014

Titel studie: Koepelaanvraag Dier in
Wetenschap en Maatschappij

DEC nummer: 2014.III.07.057

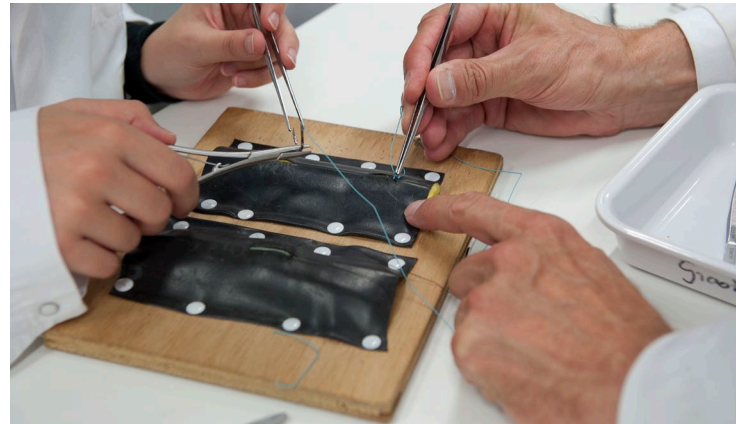
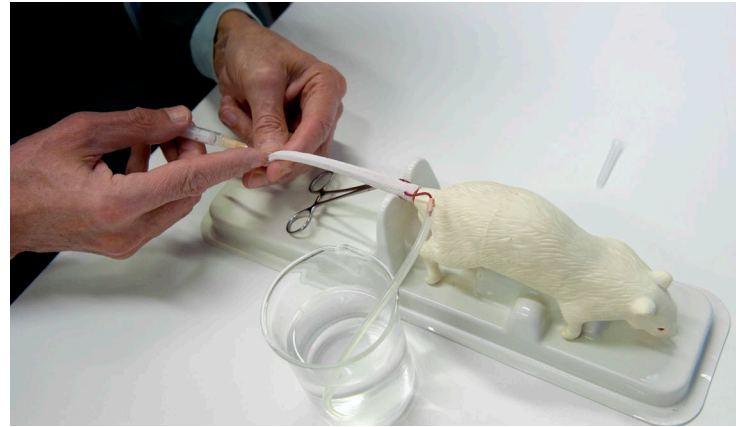
Onderwijs met gebruik van kleine proefdieren

Achtergrond, leerdoel, doelgroep: Voor dierenartsen in opleiding en personen die opgeleid worden om te werken onder de wet op de dierproeven is zorgvuldige omgang met dieren essentieel. Hanteren en oefening in het deskundig uitvoeren van handelingen met veel gebruikte kleine proefdiersoorten geeft studenten de gelegenheid om in een veilige leeromgeving te leren over het werken met dieren. Daarbij wordt steeds weer de nadruk gelegd op wat het effect is van de handeling op het dier. Opzet van het onderwijs: In de practica leren cursisten de verschillende kleine proefdieren (muis, rat, hamster, cavia en konijn) op de juiste wijze op te pakken en te fixeren. In het practicum basistechnieken leren de studenten muizen injecteren en ratten oraal te gavageren. In het practicum gedrag leren de studenten gestructureerd dieren observeren in verschillende situaties en gedragsopstellingen.

Foto boven: Instructie m.b.v. een kunstrat.

Foto midden: Aanleren hechttechnieken op oude fietsbanden.

Foto onder: Hanteren rat voorafgaand aan orale toediening.





Titel studie: Testen van GSK inhibitor als behandeling voor uitzaaiend borstkanker; de pilot 2

DEC nummer: 2014.III.07.058

Behandeling op maat voor invasief borstkanker; een pilotstudie met als doel de werking van een medicijn (Rock inhibitor) te testen

Achtergrond: Uitzaaiing bij borstkanker is een belangrijke doodsoorzaak onder vrouwen. Behandeling beperkt zich momenteel tot palliatieve zorg en symptoombestrijding. Deze muismodellen zullen hopelijk bijdragen tot het ontwikkelen van alternatieve therapeutische interventie strategieën. Wij hebben na 6 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 uit te kunnen zaaien.

Doel/hypothese: We willen testen of de huisgemaakte remmer net zo effectief is als de gekochte variant.

Globale aanpak vraagstelling: Op basis van laboratorium proeven hebben we een betere remmer ontdekt die onze borstkankercellen kunnen doodmaken door remming van het eiwit Rock. Omdat we denken dat dit als behandeling ingezet kan worden om uitzaaiend borstkanker te bestrijden, willen we deze remmer (GSKi) testen in

muizen om te kijken of we het uitzaaiingsproces kunnen remmen. Voordat we aan deze proef beginnen, willen we weten dat onze huisgemaakte remmer goed werkt. Daarom doen we deze pilot. De ene helft van de dieren zal worden geïnjecteerd met de huisgemaakte remmer en de andere helft met de gekochte remmer in groepen met verschillende concentraties. Na 2 uur zullen de muizen worden geëuthanaseerd en de weefsels en het bloed worden geanalyseerd op de aanwezigheid van de remmer. Omdat we ook kunnen kijken in de weefsels of de remmer doet wat hij moet doen, rolt er uit deze pilot de ideale concentratie remmer, die we in een nieuwe aanvraag preklinisch zullen gaan testen.

Titel studie: Applicatie MRI cardiac

DEC nummer: 2014.III.07.059

Protocol voor MRI hartonderzoeken bij gezelschapsdieren (hond en kat)

Achtergrond: Er is sinds december 2013 een nieuwe MRI (1.5T) op de afdeling Diagnostische Beeldvorming. Met deze sterkere magneet kunnen er meer verschillende onderzoeken worden uitgevoerd. Er staat o.a. een nieuwe software programma ter beschikking waarbij ook harten onderzocht kunnen worden. Om deze speciale protocollen te kunnen uitvoeren op patiënten stelt Phillips 2 applicatiedagen ter beschikking om die deze nieuwe software toe te lichten aan de laborant en veterinaire radiologe. Om van deze applicatiedagen optimaal gebruik te kunnen maken, is het noodzakelijk de protocollen aan levende dieren uit te proberen. De software is nu voor de mens ingesteld, dus er moeten nieuwe protocollen

Foto links-boven: Fixatie rat t.b.v. orale toediening.

Foto rechts-boven: Fixatie muis voor injectie in de buikholte.

Foto rechts-onder: Instructie dosering.

Foto links-onder: Student leert het geven van een injectie in de nekplooi van een muis.

uitgewerkt worden voor dieren (katten en honden).

Doel/hypothese: Het uitwerken van geschikte protocol-len voor MRI studies van de harten bij de hond en kat.

Globale aanpak vraagstelling: Het is niet mogelijk om tot een goed MRI protocol voor arts onderzoeken te komen bij een preparaat of dood dier, vandaar de noodzaak om hiervoor een levend dier te gebruiken. Het MRI onderzoek zelfs veroorzaakt geen ongerief voor het dier omdat het dier onder algehele anesthesie zich bevind gedurende het MRI onderzoek. De anesthesie wordt als gering/matig ingeschat. Het is belangrijk om tot een goed protocol te komen, zodat deze kan worden gebruikt in de toekomst voor patiënten.

**Titel studie: Koepelaanvraag
Landbouwhuisdieren – varkens**

DEC nummer: 2014.III.07.060

Achtergrond: De student diergeneeskunde dient in zijn opleiding - naast theoretische kennis - ook handvaardighe-den en inzicht zich eigen te maken. Hiervoor zijn handel-in-gen aan dieren noodzakelijk, niet alleen in het observeren van gedrag, het correct hanteren van dieren, maar ook het uitvoeren en interpreteren van klinisch en laboratorium onderzoek. Dieren worden geïnspecteerd en onder-zocht in hun eigen leefomgeving (een varkensbedrijf), of dieren worden er speciaal voor aangekocht, teneinde de studenten inzicht te laten verkrijgen in aandoeningen, die niet voorkomen op dat betreffende varkensbedrijf en redeneren vanuit de bijbehorende verschijnselen van die aandoeningen.

Leerdoel, doelgroep: Studenten diergeneeskunde uit alle jaren van de studie .

Opzet van het onderwijs: De dieren worden zoveel mo-gelijk op een bedrijf geobserveerd/gehanteerd en klinisch onderzocht. Tevens biedt inspectie/onderzoek op een bedrijf de mogelijkheid om naast individuele dieren de interactie van de dieren met elkaar te observeren en de relatie met de leefomstandigheden te leggen. Indien noodzakelijk worden dieren aangekocht om de student ook te onderwijzen in aandoeningen die niet op dat be-drijf voorkomen en inzicht te verkrijgen in de pathofysio-logische achtergronden van de aandoeningen, omdat de dieren tijdens het verblijf in de onderwijsstal uitgebreider onderzocht kunnen worden en ook post-mortem aan uitgebreide inspecties onderworpen worden.

**Titel studie: Role of E2F7/ E2F8 in lipid and
carbohydrate metabolism**

DEC nummer: 2014.III.07.061

Rol van twee genen in metabolisme van vet en suikers

Achtergrond: Leverziekten die niet aan alcohol gebruik gerelateerd zijn komen wereldwijd veel voor; 40% van de wereldbevolking heeft er in meer of mindere mate last van en dit percentage lijkt te stijgen. Ernstige vormen zijn steatose (leververvetting), cirrose (ontstaan van veel lit-tekenweefsel) en kanker, waarbij het hebben van obesitas als risicofactor gezien wordt voor het ontstaan van zowel de steatose als kanker en suikerziekte. De behandeling van leverkanker en metabole ziekten is nog steeds niet erg efficiënt; meer kennis van het hoe en waarom deze ziekten ontstaan is belangrijk om tot betere preventie en betere

behandelmethoden te komen. In de lever van zoogdieren komen zowel cellen met een, grote kern als ook cellen met meerdere kernen voor. In eerdere studies werd door ons in muizen aangetoond dat inactiveren van twee genen (die effect hebben op het overschrijven van DNA informatie) effect heeft op het ontstaan van de meerkernige cellen. In lever waar een ander gen werd uitgeschakeld (een ander gen dan de eerder genoemde twee genen), treedt grote vetstapeling op. In levers waar alle drie de genen uitgeschakeld zijn worden geen grote kernen aangetroffen én is weinig vetstapeling aanwezig. Wij verwachten dat remming van de vorming van de meerkernige cellen (door uitschakeling van de twee genen) het ontstaan van 'fatty-liver-diseases' zal verminderen bij muizen die gevoerd worden met een hoog-vet dieet

Doel/hypothese: 1. Cellen met grote kernen, of cellen die meerdere kernen hebben zijn essentieel voor het ontwikkelen van door voeding veroorzaakte fatty-liver-diseases. 2) de aanwezigheid van de twee genen in combinatie met meerkernige cellen is essentieel voor het ontwikkelen van door voeding veroorzaakte fatty-liver-diseases. 3) Uitschakelen van de twee genen in alle lichaamscellen voorkomt de ontwikkeling van door voeding veroorzaakte obesitas.

Globale aanpak vraagstelling: Cellen met grote kernen en meerkernige cellen zijn normaal gesproken aanwezig in zoogdieren. De eventuele rol van deze cellen in de ontwikkeling van metabole ziekten is onbekend. In deze studie, waarbij muizen als "model-zoogdier" gebruikt Worden, onderzoeken we de rol van de twee genen in normale lever en tijdens het ontstaan van 'fatty-liver disease' en/of obesitas. Het doel is om de verzamelde

kennis te gebruiken in het genereren van een therapie of om te helpen bij preventie van genoemde ziekten. In deze studie worden alleen mannen gebruikt omdat deze meer en sneller leververvetting ontwikkelen. Bovendien komen cellen met grote kernen en meerkernige cellen in grotere mate in mannetjes muizen voor. De genen worden specifiek in de lever uitgeschakeld. Dit gebeurt door middel van toedienen van een chemische stof. Als de dieren 8 weken oud zijn worden de muizen worden over verschillende subgroepen verdeeld en krijgen gedurende 12 weken een hoog-vet-dieet. Aan het einde van deze periode worden een aantal metabole testen uitgevoerd (onder volledige verdoving van het dier) waarna de dieren geëuthanaseerd worden en bloed en weefsel voor verdere analyse worden verzameld. De lever speelt een centrale en belangrijke rol in het lichaam met betrekking tot het reguleren van de energie huishouding. De interactie van de lever met de rest van het lichaam is essentieel om metabole processen te kunnen bestuderen. Door gebruik te maken van proefdieren kan informatie verkregen worden over de mechanismen betrokken bij het ontstaan van genoemde ziekten. Het aantal proefdieren dat in deze studie gebruikt wordt zal zo beperkt mogelijk zijn; de maximale mate van ongerief wordt geschat als mild/matig.

Titel studie: Opzetten muizenmodel van pancreastumoren om behandeld te worden met RFA

DEC nummer: 2014.III.07.062

Het opzetten van een model, waarbij muizen een alvleeskliertumor ontwikkelen, die kan worden behandeld met radiofrequente ablatie

Achtergrond: In Nederland zijn er jaarlijks 800 nieuwe patiënten met alvleesklierkanker, bij wie de tumor is doorgroeid buiten de alvleesklier rondom belangrijke vaten waardoor een operatie niet meer mogelijk is.

Alternatieve behandelingen, zoals chemo- en radiotherapie geven slechts een minimale verlenging van de levensduur (gemiddeld 2 a 3 maanden). De prognose van deze patiënten is slechts circa 8 maanden. De laatste jaren is er veel onderzoek gedaan naar een nieuwe behandeling, genaamd Radiofrequente Ablatie (RFA). Dit is een techniek waarbij er dunne naalden (electroden) in de tumor worden geplaatst, waarna er stroom door de naalden wordt gevoerd, die er voor zorgt dat de tumorcellen om de naalden worden verbrand en vernietigd.

Uit de onderzoeken blijkt dat deze behandeling een levensverlenging van 19 tot wel 33 maanden kan geven. Dit is een aanzienlijke overlevingswinst ten opzichte van de huidige behandelingen. De gedachte is deze enorme levensverlenging te danken is aan de vernietiging van de tumor en daarmee het verkleinen van de tumor, maar er zijn nu ook suggesties dat dit komt omdat RFA een reactie van het afweersysteem oproept, dat de tumor na de behandeling gaat aanvallen. Om te onderzoeken of een dergelijke reactie optreedt, zullen we eerst een muizen-

model moeten opzetten, waarbij we deze situatie kunnen nabootsen. Dat gaan we doen met het huidige onderzoek: vaststellen welke tumorcellen in de muis leiden tot de ontwikkeling van alvleeskliertumoren en in welke muis we RFA kunnen toepassen.

Doel/hypothese: Het opzetten van een model, waarbij muizen alvleeskliertumoren ontwikkelen, die we kunnen behandelen met RFA. Zodra we dit model hebben ontwikkeld met behulp van het huidige onderzoek, kunnen we vervolgens gaan onderzoeken welke reacties er optreden na de behandeling met RFA.

Globale aanpak vraagstelling: Om een model te kunnen maken waarin muizen alvleeskliertumoren ontwikkelen, maken we gebruik van tumorcellen waarvan bekend is dat als je ze in de alvleesklier van een muis 'stopt' ze uitgroeien tot alvleeskliertumoren. Dit gaan we doen op twee manieren: door de cellen in te spuiten in de alvleesklier of door een tumorblokje (een stukje tumorweefsel van een andere muis die alvleesklierkanker heeft) te implanteren in de pancreas van de muis. Dit doen we beide nadat de buik van de muis chirurgisch is geopend. Vervolgens zullen we de buik van de muizen opnieuw openen op 5 verschillende momenten, zodat we de grootte van de tumor over de tijd kunnen bepalen. Dit is van belang voor vervolgstudies: zodat we exact weten hoe groot de tumor is op welk moment. Om te kunnen vaststellen op welk moment we het beste de RFA behandeling kunnen toepassen, zullen we bij de muizen met de juiste tumor afmeting, RFA uitvoeren, waarna de alvleesklier eruit wordt gehaald. De alvleesklier wordt vervolgens door een patholoog beoordeeld. Hij/zij zal vaststellen hoeveel percentage van de tumorcellen vernietigd is, zodat we een uitspraak kunnen doen over

een eventuele relatie tussen de grootte van de tumor, de duur van de RFA behandeling en het aantal tumorcellen dat wordt vernietigd.

Titel studie: Intravital imaging of mice treated with gemcitabine and M402

DEC nummer: 2014.III.07.064

Intravitale beeldvorming van invasie van tumorcellen in muizen met alvleeskliertumoren na behandeling met chemotherapie en een heparine derivaat

Achtergrond: Alvleesklierkanker is een dodelijke ziekte. Maar 5% van de patiënten die met deze ziekte gediagnostiseerd worden overleefd 5 jaar na de diagnose. Behandelingen zorgen ervoor dat de overleving van patiënten waarbij verwijdering van de tumor heeft plaatsgevonden met een paar maanden toeneemt na behandeling met gemcitabine chemotherapie. In de afgelopen jaren zijn verschillende medicijnen getest om patiënten te behandelen en hiermee de levensduur van patiënten, die bereikt kan worden met gemcitabine, te vergroten. Het doel van adjuvante chemotherapie is het verwijderen van tumorcellen die na de operatie zijn overgebleven of door het lichaam circuleren. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is een proces waarbij epitheel cellen veranderingen ondergaan en het gedrag gaan vertonen van mesenchymale cellen. Het wordt gesuggereerd dat dit proces een rol kan spelen bij invasie van tumor cellen tijdens metastase. Het succes van chemotherapie kan verminderd worden doordat deze therapieën voornamelijk delende cellen doden. Cellen die zijn los gekomen van de tumor zodat ze uitzaaiingen kunnen veroorzaken

delen niet en worden dan niet gedood door de therapie. Recentelijk is aangetoond dat behandeling van colorectale tumorcellen met chemotherapie resulteerde in een toename van beweging en invasie van de tumor cellen. Dit ging gepaard met een verhoogde expressie van een eiwit wat ook een rol speelt bij pancreaskanker. In een muis model voor pancreaskanker hebben we aangetoond dat gemcitabine behandeling een verandering in de tumorcellen te weeg brengt. Dit zorgt ervoor dat tumorcellen er uit gaan zien als cellen die kunnen bewegen. Met een middel genaamd M402 kunnen we dit remmen. Hieraan is niet te zien of cellen hierdoor ook daadwerkelijk meer gaan bewegen en het gezonde weefsel kunnen beschadigen. Om dit te kunnen onderzoeken hebben we een muismodel gecreëerd waarbij de tumor cellen fluorescent gelabeld zijn.

Doel/hypothese: We willen graag onderzoeken of gemcitabine behandeling een toename van invasie en beweging van tumorcellen tot gevolg heeft en of we deze remming kunnen verminderen met M402. We willen daarom muizen met fluorescent gelabelde alvleeskliertumoren die behandeld zijn met gemcitabine of M402 in beeld brengen door gebruik te maken van beeldvorming van organen in levende muizen met behulp van een microscoop.

Globale aanpak vraagstelling: We zullen een experiment uitvoeren waarbij we de dieren zullen behandelen met gemcitabine en M402. De dieren zullen na deze behandeling van een aantal weken onder anesthesie bekeken worden met een speciale fluorescentie microscoop. Hiermee kunnen we de lichtgevendende tumorcellen elke 15 min in beeld brengen en vervolgens van individuele

cellen bepalen hoeveel ze bewegen. Bij de beweging van tumorcellen en de rol van chemotherapie spelen heel veel verschillende celtypen en processen een rol. Het is niet mogelijk om deze celtypen en de processen buiten de muis te onderzoeken.

Titel studie: Effect of Dacomitinib on gemcitabine treatment in pancreatic cancer

DEC nummer: 2014.III.07.065

Effect van dacomitinib op gemcitabine behandeling in alvleesklierkanker

Achtergrond: Alvleesklier kanker staat op de vierde plaats op de aan de dood gerelateerde kankers. Maar 5 procent van de patiënten overleven de ziekte 5 jaar na de diagnose. Doordat de ziekte vaak laat gediagnostiseerd wordt, kan maar 20 procent van de patiënten een operatie ondergaan om de tumor te verwijderen. Het is om deze reden heel belangrijk dat er therapieën ontwikkeld worden die de tumorcellen dood maakt en de patiënt kan genezen. Door behandeling met gemcitabine leven patiënten met alvleesklierkanker 6 tot 8 maanden. De afgelopen jaren zijn veel verschillende therapieën onderzocht om de overleving van patiënten toe te laten nemen. Studies naar nieuwe combinatie therapieën vindt plaats in muismodellen waaronder het KPFMC muis model. Recentelijk hebben we de tumorcellen uit deze muizen in een 3D kweek gebracht. Deze speciale manier van kweken zorgt ervoor dat eigenschappen van de tumor behouden blijven die in een normale kweek verloren zouden gaan. Door gebruik te maken van deze 3D kweek hebben we de behandeling

van dacomitinib in combinatie met gemcitabine getest. Hieruit bleek dat deze combinatie therapie beter werkt dan gemcitabine alleen.

Doel/hypothese: Onze hypothese is dat de 3D kweek representatief is voor de behandeling van tumoren in muizen en dat dacomitinib een extra effect heeft op de werking van gemcitabine doordat het een bepaalde signalering in de tumorcellen tijdelijk stil legt. We denken dat het stil leggen van deze signalering in normale cellen er voor zorgt dat deze cellen niet beschadigd worden door de chemotherapie. Hierdoor zouden er bij de combinatiebehandeling minder bijwerkingen zijn

Globale aanpak vraagstelling: We zullen de dieren onderverdelen in vier groepen. Een groep ondergaat de behandeling met het oplosmiddel van de chemotherapie. De tweede groep krijgt alleen gemcitabine. De derde groep krijgt alleen dacomitinib en de vierde groep ontvangt de combinatie behandeling. Van de vier groepen zullen we bepalen hoeveel cellen er dood gaan in de tumor en in het gezonde weefsel. Hierna zullen we de uitkomsten vergelijken met de data die verkregen is uit de 3D kweek.

Titel studie: 8 foklijnen in het kader van chromosomale instabiliteit en (darm)kanker onderzoek

DEC nummer: 2014.III.07.066

Achtergrond/doel: Deze serie van fokken is bedoeld om dieren te generen voor onderzoek naar het effect van chromosomale instabiliteit (CIN) op tumor progressie in muizen die specifiek in de darm veel tumoren ontwikkelen. Deze muizen worden vaak gebruikt in onderzoek

naar kanker, met name darmkanker, omdat ze een specifieke mutatie in het Apc gen hebben. Dit gen is in humane darmkanker ook vaak gemuteerd. Door deze mutatie ontwikkelende muizen een groot aantal poliepen in de dunne darm. De dieren die uit deze fok verkregen worden, zullen worden gebruikt om te onderzoeken wat het effect van CIN op de ontwikkeling en het verloop van deze tumoren is. Dit zal worden gedaan door deze dieren te kruisen met een model voor CIN. Chromosomale instabiliteit en de daaropvolgende aneuploidie wordt in een groot deel van de tumoren gevonden; 68% van de solide tumoren in mensen heeft dit fenotype. Het is de vraag of deze CIN, een oorzaak is of kan bijdragen aan tumorontwikkeling. Ook willen we onderzoeken of CIN kan worden gebruikt als therapeutisch target. Om deze vragen te kunnen beantwoorden, wordt een model gebruikt waarin verschillende mate van CIN geïnduceerd wordt. Mutaties in het Mps1 kinase gen zorgen voor verminderde activiteit van dit kinase, waardoor instabiliteit ontstaat. Er is een model ontwikkeld waarin met twee verschillende mutaties een variatie aan CIN geïnduceerd wordt. Er wordt verwacht dat lage mate van instabiliteit de tumorontwikkeling zal bevorderen, terwijl hoge mate van CIN er voor zou kunnen zorgen dat de cellen doodgaan. Het is de bedoeling dat de chromosomale instabiliteit alleen in de darm voorkomt, waar ook de APC mutatie zijn effect heeft. Daarom wordt er een specifieke Cre expressie muis ingekruist.

Vergadering 27 augustus 2014

Titel studie: Immunomodulatory properties of pectin-derived acidic oligosaccharides in equine peripheral blood mononuclear cells

DEC nummer: 2014.III.08.067

Het effect van bepaalde suikers op de ontstekingsreactie in witte bloedcellen van het paard

Achtergrond: Het te onderzoeken suikerpreparaat (pAOS) heeft aangetoonde effecten op het afweersysteem in mensen en proefdieren. Echter, de directe invloed van pAOS op witte bloedcellen is onvoldoende aangetoond en over de werking van deze suikers in paarden is zeer weinig bekend.

Doel/hypothese: Het in kaart brengen van de werking van pAOS in dit model met witte bloedcellen van het paard kan bijdragen aan de ontwikkeling van preparaten om ziekte in paarden te voorkomen en te behandelen.

Globale aanpak vraagstelling: Omdat er geen geschikte cellijnen beschikbaar zijn voor het paard, is hier gekozen voor de isolatie van witte bloedcellen uit het bloed van het paard. Dit model hebben wij de afgelopen jaren ontwikkeld en gestandaardiseerd en blijkt een sensitieve en betrouwbare methode om de effecten van bepaalde stoffen op ontstekingsreacties te onderzoeken (waaronder vergelijkbare suikerpreparaten).

Titel studie: Koepelaanvraag Pathobiologie

DEC nummer: 2014.III.08.068

Praktisch onderwijs Anatomie, Fysiologie en Pathologie voor Bachelor en Master Diergeneeskunde, Bachelor Biomedische Wetenschappen en het University College

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Met praktisch onderwijs worden meerdere leerdoelen behaald door de studenten. Ze werken door het dissecteren aan het verkrijgen van een 3D bouwplan van vogels en zoogdieren, dat ze nodig hebben om goed lichamelijk onderzoek uit te voeren, röntgenfoto's en scans te beoordelen en ziekteprocessen te begrijpen. Tevens kunnen aan intacte gezonde dieren fysiologische parameters bepaald worden, waarbij omgang met het dier, de directe omgeving en het opleggen van inspanning variabelen kunnen zijn om fysiologische aanpassingen te demonstreren. Daarnaast is het de manier om studenten bewust te maken van het feit dat ze in hun latere beroepsuitoefening ook geconfronteerd worden met dieren. In meerdere onderdelen van deze aanvraag laten we de studenten hierop reflecteren.

Opzet van het onderwijs: Deze koepelaanvraag bevat meerdere onderdelen: het bevat het fysiologie-onderwijs waarin de normale/gezonde aanpassing van het lichaam door de studenten wordt bestudeerd aan de hand van verschillende spiersoorten van de rat. Deze spieren worden beïnvloed met meerdere lichaamseigen stoffen en medicamenten om veelvoorkomende situaties na te bootsen. Dit onderwijs wordt zowel gegeven aan studenten diergeneeskunde en van het University College. Als tweede gaat deze koepel over dieren die we

gebruiken binnen het dissectie-onderwijs. Dissectieonderwijs bevordert het 3Dinzicht bij de studenten, waar ze later in hun beroepsuitoefening gebruik van maken bij het uitvoeren van lichamelijk onderzoek, interpreteren van röntgenfoto's etc. De studenten leren de structuren te benaderen en ondervinden dat wat in het boek of op afbeeldingen beschreven staat, niet een op een terug te vinden is in het dier. Ondertussen moeten ze beslissingen nemen hoe de te vinden structuur verloopt en wat de juiste benaderingswijze is. De studenten leren het mes en de pincet hanteren en maken kennis met de weefsel typische eigenschappen van de organen. Ook de confrontatie met de dood is een leerdoel, waarop de studenten moeten reflecteren.

Titel studie: Modulatie van botvorming door inductie van lokale ontsteking

DEC nummer: 2014.III.08.070

Het identificeren van bot stimulerende ontstekingsfactoren in een gevalideerd konijnen model

Achtergrond: Voor de regeneratie van botweefsel tijdens 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 en het feit dat er maar een beperkte hoeveelheid af te nemen bot is van de patiënt. Er zijn dus alternatieve bot vervangingsconstructen nodig. Het gebruik van geladen dragermaterialen waaraan biologische componenten zijn toegevoegd t.b.v. bot vervanging wordt al enkele jaren onderzocht door verschillende groepen. In het huidige

onderzoeksproject wordt gekeken hoe lokale ontstekingsprocessen gemoduleerd kunnen worden om botregeneratie te stimuleren. Over het algemeen zorgen chronische ontstekingsprocessen voor een afbraak van botweefsel. Echter, in sommige gevallen wordt een acuut ontstekingsproces juist gevolgd door sterke botvorming. Voorbeelden hiervan vindt men bij de botgenezing na breuken, bot infecties of bij botvorming na beschadiging van spierweefsel. Daarnaast hebben experimenten met stamcellen aangetoond dat een aantal ontstekingsfactoren de differentiatie van deze stamcellen richting botcellen stimuleren. Het onderliggende mechanisme, de betrokken cellen en lokale factoren die in deze processen de botvorming stimuleren zijn nog grotendeels onbekend. Meer inzicht krijgen hierin kan mogelijk de botregeneratie in bot vervangingsconstructen verbeteren. Op dit moment zijn er een aantal ontstekingsfactoren bekend die de differentiatie van stamcellen richting botcellen stimuleren. Het doel hier is om een aantal ontstekingsfactoren te screenen op botvorming in een geschikt preklinisch model. Dit model hebben we reeds gevalideerd in een voorgaande dierstudie. Doel/hypothese: Het doel van de studie is het screenen van het effect van een aantal ontstekingsfactoren op de botvorming geïnduceerd door een keramisch dragermateriaal. Onze hypothese is dat het moduleren van een vroege ontstekingsrespons de BCP geïnduceerde botvorming zal stimuleren. De ontstekingsfactoren waarbij dit het geval is, zullen als model dienen voor meer mechanistische vervolgstudies. Globale aanpak vraagstelling: Blokjes gemaakt van een poreus, keramisch dragermateriaal (BCP) worden

onderhuids en in de spier geïmplantéerd in het konijn. Er kunnen 10 blokjes onderhuids, en 8 blokjes in de spier geïmplantéerd worden. Dit leverde in de vorige pilot studie geen complicaties op. Dit materiaal induceert door zijn chemische en mechanische eigenschappen de vorming van nieuw bot op het oppervlak van het materiaal. De BCP blokjes kunnen geladen worden met cellen of factoren om het effect van deze componenten op de botvorming te bestuderen. Wij zullen de BCP blokjes laden met verschillende ontstekingsfactoren, met lokale effecten. Tijdens een eerdere operatieve ingreep (6 weken eerder) worden eerst bot cement samples geïmplantéerd. Dit bot cement wordt in verloop van tijd ingekapseld door een membraan. Vervolgens wordt tijdens de tweede operatieve ingreep de botcement samples verwijderd uit het membraan en vervangen door de BCP blokjes (tijdstip 0). Zo kunnen de ontstekingsfactoren niet lekken naar omliggende weefsels. Na 12 weken BCP implantatie zullen de samples geëxplantéerd worden en nieuw gevormd bot in het materiaal worden gekwantificeerd.

Titel studie: Het effect van gereduceerde Mps1 activiteit op DMBA/TPA-geïnduceerde huidtumoren

DEC nummer: 2014.III.08.071

Het effect van ontregeling van het verdelen van het erfelijk materiaal tijdens de celdeling op gezonde huid en huidtumoren

Achtergrond: Tijdens de celdeling wordt het erfelijk materiaal (chromosomen) eerlijk verdeeld over de dochtercellen. Wanneer deze verdeling niet goed verloopt,

krijgen de dochtercellen ongelijke hoeveelheden chromosomen (chromosoominstabiliteit). Een groot deel van de cellen in tumoren hebben ongelijke hoeveelheden chromosomen. De vraag is nu of deze ongelijke verdeling een oorzaak is van kanker en/of tumorvorming kan versnellen of vertragen. Normaal gesproken is van groot belang voor het handhaven van de gelijke verdeling van de chromosomen tijdens de celdeling het enzym Mps1 (Monopolar Spindle 1). Dit enzym zorgt er voor dat de cel wacht met zich daadwerkelijk in tweeën splitsen totdat alle chromosomen op de juiste manier verbonden zijn aan de juiste 'kabels' waarmee ze naar de juiste kant van de cel getrokken kunnen worden. Dit systeem om de cel te laten wachten wordt het mitotische checkpoint genoemd. Uit experimenten met celkweek is gebleken dat als de enzymactiviteit van Mps1 een beetje verminderd is dit al effecten heeft op de werking van het mitotische checkpoint en dat als de activiteit van Mps1 helemaal geblokkeerd wordt dit checkpoint helemaal niet meer functioneert. Door de enzymactiviteit van Mps1 te manipuleren in een muismodel kunnen we dus in vivo bestuderen wat het effect is op de ontregeling van het verdelen van het erfelijk materiaal tijdens de celdeling op gezonde huid en huidtumoren.

Doel/hypothese: We verwachten effecten te zien op het ontstaan en/of op de ontwikkeling van chemisch geïnduceerde huidtumoren wanneer Mps1 gedeeltelijk geïnactiveerd is (meer of minder tumorvorming), en dat deze effecten afhankelijk zijn van de mate van chromosoominstabiliteit die geïnduceerd wordt. Ook verwachten we regressie van al bestaande huidtumoren te zien als hoge mate van chromosoominstabiliteit wordt opgewekt.

Globale aanpak vraagstelling: We hebben onlangs een muismodel gemaakt waarin het eiwit Mps1 (gedeeltelijk) geïnactiveerd kan worden, in verschillende maten. Dit zorgt voor ongelijke verdeling van de chromosomen, ook in verschillende maten. In deze studie gaan we het effect van gedeeltelijk geïnactiveerd Mps1 op huidtumoren en gezond huidweefsel bestuderen. Om het effect op huidtumoren te bestuderen maken we gebruik van een veel gebruikt model om huidtumoren op te wekken door de rug te behandelen met chemicaliën. Omdat deze methode in het verleden vaker is gebruikt, is het relatief voorspelbaar hoe snel en hoeveel tumoren zich gaan ontwikkelen, waardoor we heel goed kunnen bestuderen wat het effect van ongelijke verdeling van chromosomen op deze tumorgroei zal zijn. De inzet van proefdieren is in deze noodzakelijk omdat tumorvorming en behandeling (nog) niet in een petrischaal bestudeerd kan worden. Dit komt doordat kanker een proces is waarbij het gehele organisme betrokken is en te ingewikkeld (onmogelijk) om in z'n geheel na te bootsen.

Titel studie: Het effect van Chromosomale instabiliteit op tumor ontwikkeling/progressie in muizen met de APCmin mutatie

DEC nummer: 2014.III.08.073

Het effect van verkeerde verdeling van erfelijk materiaal tijdens de celdeling op ontwikkeling en progressie van darmtumoren in muizen die door een mutatie darmpoliepen krijgen

Achtergrond: Tijdens de celdeling moet het erfelijk materiaal (chromosomen) eerlijk verdeeld worden over de

nieuwe cellen. Als dat niet goed gaat, hebben de dochtercellen een ongelijk aantal chromosomen en spreken we van chromosomale instabiliteit. Dit is een veel voorkomend verschijnsel in tumoren. Er is echter nog weinig over dit verschijnsel bekend. In dit onderzoek kunnen we door mutaties in het eiwit Mps1 verschillende niveaus van deze instabiliteit genereren. Dit wordt gecombineerd met een veel voorkomende mutatie in darmkanker. We willen onderzoeken hoe de combinatie van toenemende instabiliteit en mutatie in een darmkanker gen invloed hebben op de ontwikkeling en progressie van tumoren. Doel/hypothese: Het doel van de studie is om meer duidelijkheid te krijgen over de rol van chromosomale instabiliteit in tumorontwikkeling en -progressie. We verwachten dat er meer en/of een versnelde tumorvorming plaatsvindt wanneer er chromosomale instabiliteit is. Wanneer deze instabiliteit te groot wordt, kunnen de cellen doodgaan, wat er voor zou kunnen zorgen dat de tumor kleiner wordt of verdwijnt.

Globale aanpak vraagstelling: De muizen met de darmtumormutatie worden gekruist met muizen die specifiek in de darm chromosomale instabiliteit laten zien. We zullen deze dieren observeren tot ze 12 weken oud zijn en daarna onderzoeken we de darm op tumoren. We zullen kijken naar het aantal, de grootte, locatie en graad. Ook zullen we onderzoeken of bepaalde eiwitten wel of niet aanwezig zijn door plakjes van de darm aan te kleuren. Naast dit post mortem onderzoek zullen we ook darmstructuren, zogenaamde organoïden, uitgroeien van deze muizen. Hierin kunnen we het proces van instabiliteit live volgen en bepalen of de ernst van de instabiliteit overeenkomt

met de verwachting. Ook kunnen we verder onderzoek doen aan andere mutaties die vaak in kanker voorkomen met deze organoïde techniek.

Titel studie: pilot: gelMA scaffold fixation in cartilage defects (2)

DEC nummer: 2014.III.08.074

De fixatie van een hydrogel in een kraakbeendefect

Achtergrond: Kleine kraakbeendefecten bij jonge patiënten kunnen worden hersteld middels een celimplantatie. De cellen worden geïmplantéerd in een hydrogel. De huidige hydrogel is niet optimaal omdat het niet vormstabiel is en snel oplost. Later dit jaar willen we daarom een studie uitvoeren bij paarden waarbij we kraakbeendefecten herstellen met behulp van een nieuwe hydrogel. Het doel van deze studie is dus om hydrogellen te verbeteren voor celtransplantatie in kraakbeendefecten in de knie. Het type cellen dat we gebruiken in de paardenstudie wordt reeds in mensen toegepast in een klinische studie.

Doel/hypothese: Voordat we de paardenstudie willen uitvoeren moeten we zeker weten dat de nieuwe hydrogel niet loslaat. Daarom willen we in deze studie de fixatie van de hydrogel bestuderen in 1 paard.

Globale aanpak vraagstelling: De celimplantatie met de nieuwe hydrogel zal worden uitgevoerd op 1 paard. Dit betreft een paard dat voor studiedoeleinden voor diergeneeskundestudenten reeds geëuthanaseerd gaat worden. Twee kraakbeendefecten worden gemaakt in beide knieën van het proefdier. De hydrogel (waar de cellen in zitten) wordt vervolgens geïmplantéerd in deze defecten. Na twee weken zullen we de knieën weer openen en beoor-

delen of de hydrogel nog in het kraakbeendefect zit, zoals we het hadden geplaatst. Als de hydrogellen niet goed vastzitten zouden ze vrij kunnen komen in het gewricht. In dat geval zullen we lege defecten aantreffen.

Titel studie: Het effect van Slain2 knockdown op het metastaseren van MDA-MB-231 cellen

DEC nummer: 2014.III.08.075

Op weg naar een behandeling op maat voor invasieve borstkanker

Achtergrond: Uitzaaïing bij borstkanker is een belangrijke doodsoorzaak onder de vrouwen. Behandeling beperkt zich op dit moment tot palliatieve zorg (verzachtende zorg) en symptoombestrijding. Deze muismodellen zullen hopelijk bijdragen aan het ontwikkelen van therapeutische interventie strategieën.

Doel/hypothese: Het bestuderen van genen die belangrijk (kunnen) zijn bij het uitzaaïen van borstkanker.

Globale aanpak vraagstelling: In laboratoriumproeven hebben we gezien dat de borstkankercellen nauwelijks bewegen nadat het gen is uitgezet. Omdat we denken dat dit een aanwijzing is voor hoe we uitzaaïingen kunnen behandelen, gaan we dit nu testen in muizen. In een schaalte in het lab kunnen we niet alles uit een levend organisme nabootsen, vandaar dat we het ook in de muizen moeten testen. Plan van aanpak: 1. Tumorcellen worden in de borstklier van muizen gespoten. 2. Er treedt tumorgroei op dat wordt gemeten met een schuifmaat. 3. Als de tumoren 50-100mm3 groot zijn, starten we met speciaal voer, waardoor een gen (deel in de cel) uitgezet wordt. Het effect van dit middel wordt gevolgd d.m.v. de grootte

van de tumor. Ook worden de cellen in de muis gevolgd met behulp van een Bioluminescentie imager, waarin we de cellen zichtbaar kunnen maken. Hiermee kunnen we zien of de cellen ook op andere plaatsen in het lichaam zitten (zijn uitgezaaid), dan alleen daar waar we ze hebben ingespoten.

Titel studie: Regeneratie van de bekkenbodem van de rat na gesimuleerde bevallingsschade

DEC nummer: 2014.III.08.077

Regeneratieve middelen om schade aan de bekkenbodem na een bevalling te voorkomen

Achtergrond: Incontinentie en een verzakking van de bekkenorganen komen heel veel voor, vooral bij vrouwen die in het verleden zijn bevallen. Schade aan de bekkenbodemspieren en -zenuwen door een bevalling is de meest waarschijnlijke oorzaak van deze klachten. Ongeveer 13% van alle vrouwen zal een operatie ondergaan om deze klachten te verhelpen. Deze operaties en andere behandelingen zijn helaas maar matig doeltreffend. Daarom is het van belang nieuwe behandelingen te ontwikkelen om dit grote probleem onder de vrouwelijke bevolking te behandelen of voorkomen.

Doel/hypothese In dit onderzoek testen wij twee behandelingen die weefselherstel na een bevallingsschade kan bevorderen:

1. Stamcellen: deze speciale cellen hebben bijzondere eigenschappen om beschadigd weefsel helpen te herstellen. In dit onderzoek willen we onderzoeken wat de effecten van stamcellen op herstel van de bekkenbodem zijn.

2. ReGeneraTing Agent OTR4131: Dit middel bootst de werking van een lichaamseigen stof na dat nodig is voor de werking van groeifactoren, wat herstel van weefselschade bevordert. In dit onderzoek willen we onderzoeken of RGTA OTR4131 het herstel van de bekkenbodemschade bevordert. We denken dat door het toedienen van stamcellen of RGTA OTR4131 er beter herstel van de bekkenbodem optreedt na schade.

Globale aanpak vraagstelling: Wij zullen een ratmodel gebruiken om schade aan de bekkenbodem te veroorzaken die lijkt op de schade die bij een vrouw optreedt door een bevalling. Deze ratten zullen we behandelen met stamcellen of RGTA OTR4131 en verschillende functies van de bekkenbodem na deze behandelingen testen. Deze behandelingen kunnen alleen door dierproeven worden getest omdat de effecten hiervan nog onvoldoende bekend zijn en er geen alternatieve modellen voor bekkenbodemschade zijn.

Titel studie: Immunotherapie voor berkenpollenallergie met recombinante eiwitten

DEC nummer: 2014.III.08.078

Immunotherapie voor berkenpollenallergie: Mogelijkheden van immunotherapie met eiwitten gemaakt in bacteriën

Achtergrond: Berkenpollenallergie treedt vaak op en wordt soms ook gevolgd door voedselallergieën. Door dit onderzoek in een muis-berkenpollenallergiemodel proberen we mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe of verbeterde therapieën voor berkenpollenallergie te ontwikkelen.

Doel/hypothese: Immunotherapie voor berkenpollenallergie is nu nog langdurig en risicovol. In dit project willen we kijken hoe effectief immunotherapie (in de neus of huid toedienen van allergeen) met een berkenpolleneiwit gemaakt in bacteriën, berkenpollenallergie in muizen kan verlagen.

Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek wordt gedaan in proefdieren om twee redenen: Immunotherapie kan nog steeds niet in veel vormen van allergie gebruikt worden door het hoge risico op bijwerkingen in de mens. Het testen van de effectiviteit van deze therapie kan ook alleen in de muis omdat dit veranderingen in het hele immuunsysteem betreft, wat nog niet in vitro te bestuderen is. De capaciteit tot het stimuleren van het immuunsysteem wordt getest door deze eiwitten in muizen te injecteren, gevolgd door het meten van antilichamen tegen deze eiwitten. De veiligheid van de eiwitten wordt getest door muizen allergisch te maken voor berkenpollen en hierna te injecteren met de in bacteriën gemaakte eiwitten, waarna de allergische reactie gemeten wordt. De effectiviteit van de eiwitten wordt getest door muizen allergisch te maken voor berkenpollen en hierna de in bacteriën gemaakte eiwitten als therapie aan de muizen toe te dienen in de neus of de huid. Dit wordt gevolgd door blootstelling aan berkenpollen en hierna het meten van de allergische reactie.

Titel studie: Preventie van metabool syndroom

DEC nummer: 2014.III.08.079

Preventie van metabool syndroom en diabetes type2 met ectofosfatases

Achtergrond: Een recente publicatie uit het Massachusetts General Hospital (MGH) opent het perspectief op een geheel nieuwe therapeutische benadering ter preventie van het metabool syndroom (vetzucht) en behandeling van type 2 diabetes. In muizen is aangetoond dat orale toediening van intestinal alkalische fosfatase (IAP) de ontwikkeling van metabool syndroom kan voorkomen maar ook de diabetes(suikerziekte) gerelateerde effecten van een hoog vet dieet kan herstellen. Wanneer deze resultaten vertaald kunnen worden naar de mens, zou dat een belangrijke doorbraak betekenen in de behandeling van één van de belangrijkste wereldgezondheidsproblemen.

Doel/hypothese: Metabool syndroom en diabetes type2 zijn een wereldwijd volksgezondheidsprobleem. In potentie kunnen de resultaten van Massachusetts General Hospital een doorbraak betekenen in de preventie en behandeling van deze aandoeningen. Echter; de beschikbaarheid van het uitgangsmateriaal voor de winning van intestinal alkalische fosfatase zal ontoereikend zijn. Ons onderzoek is erop gericht om alternatieve fosfatase bronnen te identificeren en beschikbaar te maken als alternatief voor het huidige intestinale alkalische fosfatase. Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden gehouden op een hoog vet dieet om daarmee metabool syndroom op te wekken om in deze dieren de effectiviteit van toediening van fosfatases ter preventie van metabool

syndroom en type2 diabetes te bestuderen. Een alternatief voor intestinaal alkalische fosfatase is nodig om de potentiële nieuwe therapie toegankelijk te maken voor breedschalige toepassing.

Vergadering 24 september 2014

Titel studie: Farmacokinetiek, weefselverdeling en weefselopname van tumor-gestuurde exosomen in tumordragende muizen

DEC nummer: 2014.III.09.080

Evaluatie van het gedrag van tumor-gestuurde membraanblaasjes in tumordragende muizen

Achtergrond: Gentherapie is een veelbelovende strategie om kanker te behandelen. Om gentherapie te laten slagen, is het van belang om genetisch materiaal af te leveren in een tumorcel. Dit materiaal wordt snel afgebroken in het bloed, en is niet in staat om een cel binnen te gaan. Daarom wordt het materiaal verpakt in dragersystemen, die de lading beschermen tegen afbraak en af kunnen leveren aan de juiste cel. In het verleden zijn hiervoor vele kunstmatige dragersystemen ontwikkeld. Deze kunnen echter toxisch zijn en behalen vaak niet de beoogde aflever efficiëntie. Het lichaam beschikt zelf ook over een systeem om genetisch materiaal uit te wisselen tussen cellen, namelijk via uitscheiding en opname van membraanblaasjes. Aangezien deze blaasjes zeer efficiënt hun lading kunnen overdragen aan een cel en door hun lichaamseigen karakter niet schadelijk zijn, zijn ze in theorie uitermate geschikt voor gentherapie. Echter, voordat de blaasjes ingezet kunnen worden als dragersystemen voor kankertherapie, dienen ze aangepast te worden zodat ze specifiek door tumorcellen opgenomen worden, terwijl andere cellen en weefsels worden vermeden. Dit zal bijwerkingen verminderen en daarnaast kan dit de dosering die beno-

digd is voor een therapeutisch effect verkleinen. In deze studie wordt onderzocht of membraanblaasjes specifiek naar tumorcellen kunnen worden gestuurd door eiwitten (antilichaamfragmenten) aan de blaasjes te koppelen. Daarnaast wordt informatie verkregen over het algemene circulatiegedrag van deze blaasjes in het lichaam, wat kan bijdragen aan de ontwikkeling van lichaamseigen dragersystemen voor gentherapie.

Doel/hypothese: De doelen van deze studie zijn als volgt:

1. Bepalen hoe lang natuurlijke en gemodificeerde membraanblaasjes in de bloedsomloop circuleren.
2. Bepalen hoe natuurlijke en gemodificeerde membraanblaasjes zich verdelen over het lichaam.
3. Bepalen in welke mate natuurlijke en gemodificeerde membraanblaasjes in staat zijn om specifiek tumorcellen binnen te dringen.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt onderzocht hoe natuurlijke en gemodificeerde membraanblaasjes zich verdelen over het lichaam, hoe deze circuleren en hoe goed deze in staat zijn om tumorcellen binnen te dringen. Deze studie zal bestaan uit 2 experimenten waarvoor in totaal 66 muizen (stam: NU/NU) nodig zijn. In beide experimenten worden humane tumorcellen onderhuids geïmplantéerd bij de muizen, waardoor zich een tumor ontwikkelt. In de eerste studie worden de tumordragende muizen ingespoten met infrarood gelabelde membraanblaasjes waarna bloed wordt afgenomen middels wangpunctie om te bepalen hoe lang de blaasjes circuleren. De verdeling van de blaasjes over de weefsels wordt daarnaast live gevolgd met een pijnloze imaging-techniek. Vervolgens wordt na euthanasie de hoeveelheid blaasjes in ieder orgaan nauwkeurig bepaald. Voor

het tweede experiment wordt van hetzelfde diermodel gebruik gemaakt, maar hierbij zullen de blaasjes fluorescent gelabeld worden zodat nauwkeurig weefselopname kan worden bestudeerd. Hierbij wordt gebruik gemaakt van kennis uit het eerste experiment, zodat de meest optimale dosering kan worden toegepast en niet succesvolle formuleringen kunnen worden uitgesloten. Ondanks technologische vooruitgang zijn er momenteel (nog) geen goede alternatieven om de circulatietijd, weefselverdeling en weefselopname van membraanblaasjes te bestuderen. Aangezien dit cruciale aspecten zijn van de karakterisering van membraanblaasjes, zijn proefdieren nodig om dit te onderzoeken.

Titel studie: Behandeling met het fusie-eiwit IL4-10 (synerkine) in een hondenmodel voor artrose

DEC nummer: 2014.III.09.081

Behandeling met het fusie-eiwit IL4-10 (synerkine) in een hondenmodel voor artrose

Achtergrond: Artrose is een invaliderende gewrichtsaandoening die steeds vaker voorkomt in onze vergrijzende bevolking. Tot op heden is artrose niet te genezen en zal in veel gevallen leiden tot verminderde kwaliteit van leven en uiteindelijk gewricht vervangende operaties (plaatsen van een prothese). Hiermee vormt de ziekte een toenemend sociaal economisch probleem. Zowel biochemische als biomechanische componenten spelen een belangrijke rol in het ontstaan en de progressie van artrose, welke tevens belangrijke aangrijpingspunten zijn voor behandeling van de ziekte.

Doel/hypothese: In de onderhavige studie toetsen we het effect van het humane fusie-eiwit IL4-10 (synerkine) op pijnstilling, remming van de ontsteking en stimulatie van het kraakbeenherstel in een artrosemodel in de hond. De hypothese hierbij is dat een herhaalde injectie met het synerkine in het gewricht de pijn alsmede de ontsteking en kraakbeenschade vermindert ten gevolge van de artrose.

Globale aanpak vraagstelling: Bij honden wordt artrose geïnduceerd volgens een bestaand gevalideerd model (Groove model). Gedurende de ontwikkeling van artrose in de aangedane knie zal de mate van ontlasting van de aangedane poot worden gemeten met behulp van een drukgevoelige plaat in de grond (force plate analyse). De mate van de ontlasting is een surrogaatmaat voor pijn, algemeen geaccepteerd in het artrose veld. Er zijn twee groepen, waarvan één groep tien weken lang wekelijks wordt behandeld met PBS injecties in het gewricht (controlegroep) en één groep met humaan synerkine. Tijdens de behandelingsperiode zal ook de ontlasting van de aangedane poot worden gemeten. Door op verschillende tijdstipmomenten tijdens en voor aanvang van de behandeling bloed af te nemen kunnen zogenaamde boodschappermoleculen (cytokines) worden gemeten, evenals levels van het synerkine in het bloed. Vijftien weken na de artrose inductie worden de dieren getermineerd en de gewrichten in verder detail geanalyseerd (kraakbeen, direct onder het kraakbeen gelegen bot en de binnenbekleding van het gewricht (synovium). Aangezien het in onderhavige studie om de combinatie van structureel schadeherstel en pijnvermindering ten gevolge van behandeling met synerkine gaat, is laboratoriumonderzoek

niet mogelijk. Daarnaast is artrose een dusdanig complex van factoren dat laboratoriumexperimenten slechts een beperkte afspiegeling zijn van de daadwerkelijke situatie in het gewricht. Artrose is een 'orgaanziekte', zelfs mogelijk een 'systeemziekte', waar zowel gewrichtskraakbeen, bot en binnenbekleding van het gewricht (synoviaal weefsel) als pezen bij betrokken zijn en waar mogelijk ook buiten het gewricht veranderingen optreden. Voor zover mogelijk verricht onze groep ook laboratorium-onderzoek met humaan kraakbeen en humane ontstekingscellen. Deze experimenten ondersteunen klinische en dierexperimentele bevindingen, echter met beperkte vertaalslag naar de daadwerkelijke situatie. Door gebruik te maken van een diermodel hebben we de mogelijkheid om het gewricht in groter detail te bestuderen.

Titel studie: Effecten van verschillende *Agaricus bisporus*-stammen in muismodel voor voedselallergie

DEC nummer: 2014.III.09.082

Rol van *Agaricus bisporus* (witte paddenstoel; champignon) in immuunmodulatie, in het bijzonder in allergische reacties tegen voedselcomponenten

Achtergrond: Voedselallergie wordt een steeds groter probleem. De afgelopen jaren is er een voedselallergiemodel in de muis opgezet en gevalideerd in ons onderzoekscentrum. Naast immunologische metingen worden ook functionele darmveranderingen 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. Het onderzoeken van de allergie verminderende en allergie beschermende effecten van verschillende *A. bisporus* stammen geeft een groter inzicht in het onderliggende mechanisme, wat kan leiden tot gerichtere dieetinterventies.

Doel/hypothese: Het ontwikkelen van specifieke therapieën gericht op het behandelen van voedselallergie. Onderzoek naar het onderliggende mechanisme van allergie door middel van een allergisch muismodel. Dit onderzoek geeft meer inzicht in het werkingsmechanisme van immuunmodulerende champignons en dit kan eventueel leiden tot een dieetinterventie.

Globale aanpak vraagstelling: Dieren worden allergisch gemaakt voor het voedsel eiwit ovalbumine. Na enkele weken worden de muizen opnieuw blootgesteld aan het eiwit. Onderzocht wordt of de diëten, welke *A. bisporus*-stammen bevatten, de allergische klachten in de muis kunnen verminderen. Complexe pathofysiologische veranderingen liggen ten grondslag aan het ontstaan van voedselallergie. Daarom hebben we het intacte dier (muis) nodig. Om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken worden er verschillende parameters in hetzelfde dier gemeten.

Titel studie: Dissectiepracticum Rat Biologie van Dieren

DEC nummer: 2014.III.09.084

Dissectiepracticum Rat

Achtergrond: Tijdens het dissectiepracticum Rat doen biologiestudenten ervaring op met het ontleden van een zoogdier. De onderlinge samenhang tussen de organen van een zoogdier wordt door hen bestudeerd. Deze kennis is van belang voor een goed begrip van en inzicht in het geïntegreerde functioneren van de belangrijkste orgaan-systemen van een zoogdier. Tevens is het van belang dat de studenten genuanceerd leren nadenken over het opzetten van dierexperimenten.

Doel/hypothese: Voor een bioloog is het van belang om inzicht te hebben in de bouw van een zoogdier, in de relatie tussen de grote orgaansystemen in de buik- en borstholte enerzijds en het bloedvatstelsel anderzijds. Tevens worden de studenten gestimuleerd tot nadenken over het gebruik van proefdieren. Ook voor studenten die later in beleidsfuncties terecht komen en dus moeten beslissen over het gebruik van proefdieren is dit essentieel. Dit practicum kan een belangrijke rol spelen in de uiteindelijke master- en beroepskeuze van de student en heeft mede ten doel de zorgvuldigheid van proefdiergebruik te stimuleren.

Globale aanpak vraagstelling: Aangezien steeds twee studenten aan één rat werken, wij als docenten toezien op een verantwoordelijke en ethische opstelling tijdens het practicum en we zoveel mogelijk gebruik proberen te maken van surplusdieren, vind ik het gebruik van de

proefdieren voor dit stuk onderwijs ethisch verantwoord. Uit studentevaluaties van de afgelopen jaren blijkt dat de meerderheid van de studenten dit ook zo ervaart.

Vergadering 22 oktober 2014

Titel studie: Insight into efficacy, dosage and local side effects of intra-articular injections with triamcinolone and celecoxib incorporated in microspheres, in a rat osteoarthritis model

DEC nummer: 2014.III.10.086

Het onderzoeken van de effecten van micropartikels die geleidelijk verschillende doseringen van ontstekingsremmende medicijnen afgeven, lokaal toegediend in de knieën van ratten met artrose

Achtergrond: Door de toename van het aantal mensen met artrose is onderzoek naar nieuwe behandelmethoden ook volop aan de gang. Er zijn verscheidene behandelmethoden beschikbaar, maar de grootste groep mensen maakt gebruik van tabletten met pijnstillende en/of ontstekingsremmende werking. Aan (langdurig) gebruik van deze medicijnen kleven bijwerkingen, zoals het ontstaan van maagzweren of het stimuleren van botontkalking. Bij heel ernstig aangedane gewrichten kan er een operatie uitgevoerd worden, maar dit is erg ingrijpend voor de patiënt en ook vrij kostbaar voor de maatschappij. Injecties met medicijnen die direct in het aangetaste gewricht worden toegediend zorgen voor minder bijwerkingen en worden al op grote schaal uitgevoerd, maar het nadeel is dat de injectie vaak herhaald moet worden, omdat het medicijn in korte tijd uit het gewricht wordt 'geklaard'. Er zijn nieuwe formuleringen ontwikkeld die zorgen voor een geleidelijke afgifte van

een medicijn, zodat het medicijn langer aanwezig is in het gewricht na een injectie in het aangedane gewricht. Deze formuleringen die in deze studie onderzocht worden, bevatten de ontstekingsremmer triamcinolone of de pijnstiller celecoxib. Om tot een veilige en effectieve behandelmethode voor mensen (en andere diersoorten zoals honden) te komen, is een onderzoek een met levende dieren eerst nodig, want het is tot op heden nog niet mogelijk om een geheel gewricht na te bootsen in het laboratorium.

Doel/hypothese: In dit experiment worden twee ontstekingsremmende medicijnen, die geleidelijk afgegeven worden uit micropartikels naar de het omringende weefsel, onderzocht. Het doel van de studie is het onderzoeken van de veiligheid en de effectiviteit van deze platforms, in een gewricht met artrose. Ook wordt het effect op het ontstekingsproces en pijn in het gewricht onderzocht.

Globale aanpak vraagstelling: Bij ratten wordt in een kniegewricht artrose geïnduceerd met injecties met collagenase (een eiwit dat het kraakbeen in het gewricht aantast). Vervolgens ontvangen de ratten een injectie in de knie met micropartikels die of het medicijn celecoxib, of triamcinolone acetonide bevatten. Er worden van elk medicijn drie doseringen onderzocht. Tijdens de proef wordt de mogelijk ontstane pijn (kreupelheid) gemeten door middel van een krachtplaat, die meet hoe de rat zijn poten belast. Ook wordt bloed afgenomen om te onderzoeken of de geïnjecteerde medicijnen in het bloed terechtkomen of lokaal in de knie blijven. Een gewricht is een complex geheel met verschillende soorten weefsels, bovendien staat het onder constant veranderende bio-

mechanische drukken. Het is op dit moment onmogelijk om de situatie in het levende dier of mens na te bootsen, waardoor het gebruik van proefdieren onvermijdelijk is.

Titel studie: Mechanismen van voedselallergie: sensibilisatie door cholera toxine en deoxynivalenol

DEC nummer: 2014.III.10.087

Mechanismen van voedselallergie: sensibilisatie door cholera toxine en deoxynivalenol

Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Middels onderzoek waarbij gebruik gemaakt wordt van celweek 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. Alhoewel het precieze werkingsmechanisme niet bekend is, is wel duidelijk dat cholera toxine de natuurlijke barrierefunctie van de darm vermindert en invloed heeft op het afweersysteem in de darm, waardoor 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. Uit een vorige studie blijkt dat het schimmel toxine deoxynivalenol voedselallergie kan veroorzaken, maar de reactie

wijkt kwalitatief af van de reactie die door cholera toxine wordt geïnduceerd. In deze studie willen we de effecten van beide toxines op de darmbarrière functie met elkaar vergelijken om te kunnen vaststellen welke veranderingen mogelijk bijdragen aan het ontstaan van voedselallergie.

Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden behandeld met de toxines. Vervolgens wordt gekeken naar de veranderingen in de doorlaatbaarheid van de darm voor het voedsleiwit beta-lactoglobuline, en naar veranderingen in signaalmoleculen van verschillende celtypen in het darmweefsel. Dit kan niet in vitro worden nagebootst, omdat veel verschillende cellen aanwezig zijn in de darm en het mechanisme van de immuunreactie dat leidt tot voedselallergie niet bekend is.

Titel studie: Karakterisering van anti-HER2 nanobodies voor kanker therapie

DEC nummer: 2014.III.10.088

Ontwikkeling van nanobodies om borstkankercellen te doden

Achtergrond: Borstkanker is de meest voorkomende kanker gerelateerde doodsoorzaak bij vrouwen. Kankercellen kunnen onderscheiden worden van gewone cellen door eiwitten die alleen in deze cellen tot overexpressie komen, tumormarkers genaamd. HER2 is een tumormarker die in 30% van de borsttumoren tot overexpressie komt. Een medicijn dat gebruikt wordt voor therapie, het monoclonaal conventionele antilichaam Herceptin, heeft zijn werking door binding aan HER2. Nanobodies (kleine, enkele keten antilichaam fragmenten) kunnen ook

gebruikt worden om kankercellen te binden via HER2. Doordat nanobodies veel kleiner zijn dan conventionele antilichamen bieden ze voordelen zoals een betere tumorpenetratie. Echter, door deze kleine afmetingen, worden nanobodies snel geklaard door de nieren als ze in de bloedbaan worden gebracht. Voordat nanobodies gebruikt kunnen worden voor therapie, zal dan ook eerst de circulatietijd verhoogd moeten worden. Eerdere studies hebben al laten zien dat nanobodies kunnen dienen als therapeutische middelen in kankerbehandeling. Door binding aan tumormarkers kunnen nanobodies een antagonistisch effect hebben en werkzaam zijn als tumorinhibitoren. Daarnaast kunnen nanobodies gebruikt worden als middel om toxines af te leveren in tumoren. Toxines, of andere functionele groepen, zoals photosensitizers, kunnen gekoppeld worden aan nanobodies. De nanobodies zorgen dan voor gerichte aflevering door binding aan de tumormarker. Een nanobody zal door binding aan HER2 waarschijnlijk geen therapeutisch effect hebben. Door koppeling van een toxine aan een HER2 bindend nanobody willen wij kankercellen gericht doden. Doel/hypothese: Het verlengen van de circulatietijd van anti-HER2 nanobodies door het maken van een fusieconstruct dat albumine bindt. Wij verwachten dat wij, door middel van het maken van een fusieconstruct, de halfwaardetijd van nanobodies kunnen verhogen in muisexperimenten. Het fusieconstruct wordt vervolgens gekoppeld aan een toxine. Dit nanobody drug conjugaat wordt vervolgens getest op het specifiek doden van HER2 positieve cellen. Wij verwachten dat wij door de specifieke binding aan HER2 van het anti-HER2 nanobody specifiek kankercellen kunnen doden in muismodellen.

Globale aanpak vraagstelling: Voorafgaand aan dit onderzoek is al gebleken dat anti-HER2 nanobodies tumoren kunnen binden in vivo. Deze specifieke nanobodies zullen in dit onderzoek gebruikt worden, evenals de opgedane kennis. Het onderzoek valt uiteen in verschillende vragen, welke na elkaar beantwoord worden. Ten eerste: kunnen we de halfwaardetijd verlengen? Ten tweede: Als de halfwaardetijd verlengd is, blijft de tumorpenetratie dan behouden? Ten derde: Als de halfwaardetijd verlengd is en de tumorpenetratie is behouden, kan de kankercel dan gedood worden? De inzet van proefdieren, in dit geval muizen, hierbij is noodzakelijk omdat het proeven betreft die direct verbonden zijn met bloedcirculatie en alle daarmee verbonden processen. Deze processen zijn niet na te bootsen met bestaande technieken in laboratoria.

Titel studie: Rol van lipide druppels in de activering van de hepatische stellaatcel van de rat

DEC nummer: 2014.III.10.089

Rol van vetafbrekende en vet-makende eiwitten bij littekenvorming in de lever

Achtergrond: Leverbeschadiging kan leiden tot littekenvorming (fibrose) door het activeren van een speciaal soort cellen in de lever, de zogenaamde 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 erachter te komen welk eiwitten verantwoordelijk zijn voor de afbraak van de vetdruppels wordt het mogelijk om gericht geneesmiddelen te ontwikkelen die leverfibrose tegengaan. Doel/hypothese: Deze studie probeert erachter te komen of eiwitten die een rol spelen bij de vetafbraak, betrokken zijn bij de verandering van stellaatcellen in "littekenzellen" in de lever.

Globale aanpak vraagstelling: Om erachter te komen welke eiwitten belangrijk zijn bij de vetafbraak in leverstellaatcellen na leverbeschadiging, gaan we die stellaatcellen isoleren uit gezonde rattenlevers. De activatie van de stellaatcellen ontstaat pas na kweken in het laboratorium. Vervolgens bepalen we de afbraak van de vetdruppels en de activatie van de geïsoleerde cellen. Door dat te herhalen in aanwezigheid van stoffen die specifiek bepaalde vetafbrekende eiwitten remmen, kunnen we vaststellen welke eiwitten betrokken zijn bij vetafbraak en of een verminderde vetafbraak leidt tot een verminderde activering van de stellaatcellen. Met die kennis kunnen we dan in een vervolgonderzoek betere remmers ontwikkelen voor gebruik tegen leverfibrose. Op dit moment zijn er geen cellijnen of andere modelsystemen beschikbaar die hetzelfde gedrag vertonen als stellaatcellen geïsoleerd uit dieren. De processen van leverfibrose in ratten lijken echter zoveel op die in mensen dat de kennis uit onderzoek aan ratten goed toepasbaar is voor leverziekten bij mensen.

Titel studie: Immunologische veranderingen in TVX/TNF geïnduceerde leverschade

DEC nummer: 2014.III.10.091

De rol van het afweersysteem in schadelijke effecten van medicijnen op de lever

Achtergrond: Veel medicijnen hebben een ongewenst schadelijk effect op de lever. Dit effect kan in de meest extreme vorm aanleiding zijn voor acuut leverfalen met een levertransplantatie als enige oplossing. Indien dit effect optreedt, kan het ook tot gevolg hebben dat het medicijn van de markt gehaald wordt, hetgeen veel economische schade tot gevolg heeft. Deze leverschade is lastig te voorspellen op grond van standaard dierproeven, waarschijnlijk omdat additionele factoren zoals bacteriële of virusinfecties een extra stimulerende rol spelen door het afweersysteem te activeren.

Doel/hypothese: Doel: Het onderzoek richt zich op het ophelderen van de exacte rol van het afweersysteem in de schadelijke werking van medicijnen op de lever.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie worden muizen behandeld met een medicijn, trovofloxacin, waarvan al bekend is dat het onverwachte leverschade geeft afhankelijk van het afweersysteem. Hoe dat precies in zijn werk gaat, is echter niet bekend en in de huidige dierstudie willen we die processen in detail bestuderen. Verschillende celtypen van het afweersysteem zijn betrokken en er zijn aanwijzingen dat de interactie van de lever met de milt ook een rol speelt. Vanwege de complexiteit van het proces is het vooralsnog onmogelijk dit experiment zonder gebruik van proefdieren uit te voeren. Uiteindelijk hopen we dat bepaalde aspecten van

het mechanisme wel vertaalbaar zijn naar voorspellende in vitro experimenten. Op basis van deze argumenten achten we het gebruik van proefdieren gerechtvaardigd.

Titel studie: Applicatie MRI abdomen

DEC nummer: 2014.III.10.092

Protocol voor MRI buik onderzoeken bij gezelschapsdieren (hond en kat)

Achtergrond: Er is sinds december 2013 een nieuwe MRI (1.5T) op de afdeling Diagnostische Beeldvorming. Met deze sterkere magneet kunnen er meer verschillende onderzoeken worden uitgevoerd. Er staat o.a. een nieuw softwareprogramma ter beschikking, waarbij ook buikholtes onderzocht kunnen worden. Om deze speciale protocollen te kunnen uitvoeren op patiënten, stelt Philips 1 applicatiedag ter beschikking om die deze nieuwe software toe te lichten aan de laborant en veterinaire radiologe. Om van deze applicatiedag optimaal gebruik te kunnen maken, is het noodzakelijk de protocollen bij levende dieren uit te proberen. De software is nu voor de mens ingesteld, dus er moeten nieuwe protocollen uitgewerkt worden voor dieren (katten en honden). Doel/hypothese: Het uitwerken van geschikte protocollen voor MRI studies van de buikholte bij de hond en kat. Globale aanpak vraagstelling: Het is niet mogelijk om tot een goed MRI protocol voor onderzoeken van de buikholte te komen bij een preparaat of dood dier, vandaar de noodzaak om hiervoor een levend dier te gebruiken. Het MRI onderzoek zelfs veroorzaakt geen ongerief voor het dier omdat het dier zich onder algehele anesthesie bevindt gedurende het MRI onderzoek. De anesthesie

wordt als gering/matig ingeschat. Het is belangrijk om tot een goed protocol te komen, zodat deze in de toekomst kan worden gebruikt voor patiënten.

Titel studie: Mechanisms of idiosyncratic DILI: Trovafloxacin (TVX) and its effects on hepatic non-parenchymal cells under inflammatory conditions

DEC nummer: 2014.III.10.093

De rol van het afweersysteem in schadelijke effecten van medicijnen op de lever: in vitro effect van het medicijn trovafloxacin op levercellen

Achtergrond: Veel medicijnen hebben een ongewenst schadelijk effect op de lever. Dit effect kan in de meest extreme vorm aanleiding zijn voor acuut leverfalen met een levertransplantatie als enige oplossing. Indien dit effect optreedt, kan het ook tot gevolg hebben dat het medicijn van de markt gehaald wordt, hetgeen veel economische schade tot gevolg heeft. Deze leverschade is lastig te voorspellen op grond van standaard dierproeven, waarschijnlijk omdat additionele factoren zoals bacteriële of virusinfecties een extra stimulerende rol spelen door het afweersysteem te activeren. Deze infecties veroorzaken een toename van factoren van het afweersysteem, die cruciaal lijken in de leverschade. Welke cellen deze factoren produceren en wat het mechanisme achter de celschade is, is niet bekend.

Doel/hypothese: Het onderzoek richt zich op het ophelderen van mechanismen waarop trovafloxacin in combinatie met factoren van het afweersysteem schade aan levercellen veroorzaakt.

Globale aanpak vraagstelling: Cellen, geïsoleerd uit lever, milt en beenmerg van muizen, worden blootgesteld aan trovafloxacin in combinatie met factoren van het afweersysteem. Veranderingen op cellulair en moleculair niveau zullen onderzocht worden. Er wordt gebruik gemaakt van cellen, direct afkomstig van muizen omdat er geen cellijnen voor bepaalde celtypen beschikbaar zijn en omdat cellen direct geïsoleerd uit de muis een beter beeld geven van mogelijke schadelijke effecten. Hierdoor, en door het lage ongerief en is het gebruik van proefdieren in onze opinie gerechtvaardigd.

Titel studie: Botvormende capaciteit van verschillende botvormende cellen

DEC nummer: 2014.III.10.094

Karakterisatie van normale humane stamcellen en maligne stamcellen in leukemie en multipel myeloom met therapie ontwikkeling

Achtergrond: Dit gehumaniseerde muizenmodel biedt ons de mogelijkheid om meer inzicht te krijgen in groei en (dis-)regulatie van botformatie, normale bloedcelproductie en de groei van bloedkankers. In het verleden hebben wij in dit muizenmodel met name naar normale botvormende cellen gebruikt. Het is echter ook interessant om te weten of botvormende cellen van bepaalde patiënten en/of genetisch gemanipuleerde botvormende cellen ook in staat zijn om bot te vormen/bloedvormende cellen te ondersteunen. Wij hebben in de afgelopen jaren dit probleem kunnen oplossen door in een muis een aangepaste "gehumaniseerde bot/beenmerg omgeving" te creëren, waardoor het wél mogelijk is gebleken

om de tumorcellen van patiënten te laten groeien. Dat geeft ons dan de mogelijkheid om experimenten uitvoeren om de bovenvermelde doelstellingen, dus groeieigenschappen en therapie/resistentie ontwikkeling, te gaan onderzoeken. Het testen van de botvormende capaciteit van de geïsoleerde en gekweekte stromale (stam)cellen gaat als volgt in zijn werk. We gaan uit van kleine brokjes (3-4 mm) heel poreus keramisch materiaal van biphasisch calcium fosfaat (BCP), ook wel scaffolds genoemd, dat ooit ontwikkeld werd om kunstbot mee te maken. Op deze scaffolds worden eerst uit het beenmerg gekweekte stromale stamcellen uitgezaaid en door toevoeging van bepaalde stoffen aan het kweekmedium, in de richting van botcellen gestimuleerd. Daarna worden ze onder de huid geplaatst van muizen met een verzwakt afweersysteem, waardoor ze de stamcellen en later de patiënt tumorcellen niet gaan afstoten (dit zijn immuundeficiënte RAG2GC knock-out muizen). In deze scaffolds groeit een laagje humaan bot met daarop het hematopoietische steunweefsel zoals je dat in het merg aantreft; dat duurt ongeveer 6-8 weken.

Doel/hypothese: In dit onderzoek willen wij verschillende normale, van patiënten afkomstige en genetisch gemanipuleerde botvormende cellen testen voor hun botvormende capaciteit in ons scaffold model. Op basis van eerdere resultaten verwachten we dat niet alle botvormende cellen even goed bot kunnen vormen in dit model.

Globale aanpak vraagstelling: In deze experimenten zal er bij muizen onderhuids poreuze keramische partikels met een grootte van circa 2-3 mm worden geïmplanterd, waarop verschillende botvormende cellen zijn uitgezaaid.

Hoewel de verschillende botvormende cellen van tevoren in een reageerbuis worden getest op hun mogelijkheid tot ontwikkeling richting het vormen van bot, is het niet mogelijk om botontwikkeling volledig na te bootsen in een reageerbuis. Omdat de huidige reageerbuisexperimenten niet per definitie voorspellend zijn voor de capaciteit van de stromale stamcellen om daadwerkelijk bot te vormen in het lichaam, is de inzet van proefdieren noodzakelijk. 6 tot 8 weken na implantatie van de scaffolds zal worden bepaald of de cellen al dan niet een laag humaan bot hebben gevormd.

Titel studie: Investigation and characterization of the receptors and molecules involved in fatty-acid mediated chemotherapy resistance

DEC nummer: 2014.III.10.096

Eerstelijns echografie abdomen kat

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het Feline Symposium is een symposium over katten, georganiseerd door studenten voor dierenartsen. De echografie cursus is een kortdurende cursus van twee uur, voor twintig dierenartsen, die vooraf wordt gegaan aan het algemene programma.

Leerdoel: Het leren maken en interpreteren van echo-beelden bij katten. Het interpreteren van beelden gaat beter wanneer er juiste echobeelden gemaakt worden. In deze cursus worden de dierenartsen bijgestaan door een specialist van de universiteit om dit te verwezenlijken. Doelgroep: De eerstelijns praktiserende dierenarts in

Nederland, die zijn of haar kennis wil uitbreiden om met behulp van diagnostische beeldvorming patiënten efficiënter te kunnen opwerken.

Opzet van het onderwijselement: De cursus is een twee uur durende wetlab, waarvan er eerst een introductie wordt gegeven, zonder gebruik van proefdieren. De katten zullen vervolgens 30 minuten worden geëchood via de buik, waarbij de nadruk wordt gelegd op het aantonen van specifieke aandoeningen bij de kat. Er zullen vijf echoapparaten aanwezig zijn op de cursus, waarbij vier dierenartsen per apparaat kunnen werken. Deze vier dierenartsen zullen samen echobeelden maken en per tweetal is er gedurende een half uur één kat beschikbaar.

Vergadering 19 november 2014

Titel studie: GSK inhibitor (GSK42986A) als behandeling voor uitzaaiend borstkanker

DEC nummer: 2014.III.11.097

Remmen van Rock voor de behandeling van uitzaaiend borstkanker (GSK42986A)

Achtergrond: Uitzaaiing bij borstkanker is een belangrijke doodsoorzaak onder vrouwen. Behandeling beperkt zich op dit moment tot palliatieve zorg (verzachtende zorg) en symptoombestrijding. Deze muismodellen zullen hopelijk bijdragen aan het ontwikkelen van alternatieve therapeutische interventie strategieën.

Doel/hypothese: Het bestuderen van stoffen/geneesmiddelen die uitzaaiende borstkanker kunnen remmen en misschien zelfs voorkomen. We maken gebruik van muismodellen die een menselijke vorm van borstkanker nabootsen en waarin we tumorcellen (en dus uitzaaiingen) kunnen volgen in levende muizen.

Globale aanpak vraagstelling: Borstspecifieke conditionele muizen bieden de mogelijkheid om tumor suppressor genen te inactiveren. Zodoende kunnen modelsystemen gecreëerd worden die een grote gelijkenis vertonen met de situatie in de mens. 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 laboratoriumproeven hebben we nieuwe remmers ontdekt die onze borstkankercellen kunnen doodmaken. Omdat we denken dat dit als behandeling ingezet kan worden om uitzaaiende borst-

kanker te bestrijden, gaan we nu deze stoffen testen in muismodellen van uitzaaiende borstkanker, die erg lijken op de situatie bij de mens. Plan van aanpak: 1. Tumorcellen worden getransplanteerd, 2. Er treedt tumorgroei op dat wordt gemeten met een schuifmaat, 3. Bij bepaalde grootte van de tumor, wordt de behandeling gestart met 1 van de remmers, 4. Het effect wordt gevolgd door middel van de maat van de tumor (schuifmaat) en met metingen naar de groei van de cellen met een apparaat dat de cellen zichtbaar kan maken in de muizen (Bioluminescentie imager).

Titel studie: Cartilage repair in ponies with GelMA and allogeneic chondrons and MSCs

DEC nummer: 2014.III.11.098

Kraakbeenherstel in pony's door middel van een hydrogel en cellen

Achtergrond: Kleine kraakbeendefecten bij jonge patiënten kunnen worden hersteld middels een celimplantatie. Dit zijn kraakbeencellen, al dan niet in combinatie met volwassen stamcellen. Dit wordt gedaan om de pijn in het gewricht te verlichten en om gewrichtsslijtage op de lange termijn te beperken. De cellen worden geïmplantieerd in een hydrogel. De huidige hydrogel is niet optimaal, omdat het niet vormstabiel is en snel oplost. In deze studie willen we kraakbeendefecten herstellen met behulp van een nieuwe hydrogel.

Doel/hypothese: In deze studie willen we evalueren of de nieuwe hydrogel leidt tot een betere kwaliteit van kraakbeen dan de huidige standaard.

Globale aanpak vraagstelling: De nieuwe hydrogel is al getest in het laboratorium en in kleine proefdieren. Echter, voordat het kan worden toegepast bij mensen moet het worden getest op grote proefdieren, die een vergelijkbare belasting hebben van de gewrichten als de mens. We hebben het maken en herstellen van kraakbeendefecten in een eerdere studie geoefend in een Shetlander pony. Dit bleek haalbaar, omdat deze na de operatie niet veel last had van de ingreep. Een tweede reden om pony's te gebruiken, is dat zij zelf regelmatig kraakbeendefecten hebben. Uitkomsten van deze studie kunnen dus van toepassing zijn op zowel de mens als paard en pony.

Titel studie: Gezelschapsdieren

DEC nummer: 2014.III.11.099

Bachelor Master curriculum 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 dat 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 onder andere verstaan het leren geven van injecties en het afnemen van bloed.

Opzet van het onderwijselement: 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, maagdarmsstelsel, nieren en geslachtsorganen, melkklieren, huid en beharing, locomotie-apparaat, zenuwstelsel, ogen, 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 aantoonbaar maakt om daarna hiervan nader onderzoek (laboratorium-, röntgenonderzoek etc.) in te stellen. Dit nadere 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 laag-frequente 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

*Praktisch onderwijs aan studenten
met als doel het leren vasthouden
en onderzoeken van reptielen.*





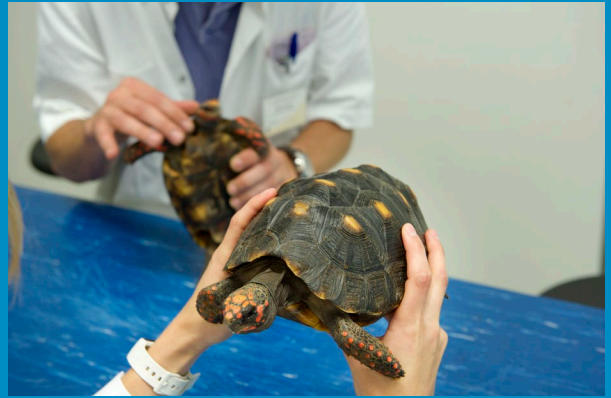
Fret



Schildpad



Leguaan



Schildpad



Baardegzaam



Slang

Practicum Diagnostiek Vogels en Bijzondere Dieren: Tijdens dit deel van het practicum haalt elke student (en docent) een duif uit de looper en houdt deze gedurende de helft van het twee uur durende practicum vast. Tijdens het practicum wordt het onderzoek van het spijsverteringskanaal bij de duif uitgevoerd. Dit wordt uiteindelijk afgesloten door het nemen van een kropswab. Hiervoor houdt een student de duif vast terwijl de andere student de swab inbrengt. Beide studenten oefenen dit op hun 'eigen' duif.



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

Titel studie: Bloeddonorprogramma voor canine patiënten

DEC nummer: 2014.III.11.101

Bloeddonatieprogramma voor honden

Achtergrond: Op de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren wordt de transfusie van bloed en bloedproducten toegepast als onderdeel van de topklinische zorg. Naast een interne donorpopulatie, wordt gebruik gemaakt van een externe bloedbank. Technische aspecten van bloeddonatie beperken echter soms de inzet van bloedtransfusies in de patiëntenzorg en voedt de noodzaak voor een aanvullend intern bloeddonorprogramma. Er is intern uitgebreide expertise aanwezig en de belasting voor de donor wordt hierdoor tot een minimum beperkt. Hiermee is de belasting voor het proefdier als direct gevolg van de donaties beperkt.

Doel/hypothese: Doel: Het verkrijgen van volbloed (en bloedproducten) voor de behandeling van honden met verschillende bloedaandoeningen op de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren (UKG).

Globale aanpak vraagstelling: Omdat het doel het verkrijgen van volbloed is, kan alleen van dieren gebruik worden gemaakt. Van de donorhonden zal elke zes weken 500 ml bloed worden afgenomen. De behoefte aan bloeddonaties betreft op jaarbasis ongeveer 100-150

donaties (gebaseerd op de administratie van het huidige bloedtransfusieprogramma.) Eén hond kan gemiddeld acht donaties per jaar geven. Om de gewenste aantallen donaties te verkrijgen zijn dus uiteindelijk twaalf honden nodig. Het programma heeft nu ruimte voor acht honden. De literatuur geeft aan dat de donatie voor proefhonden een routine is die noodzakelijk is om voldoende bloed te verkrijgen. Voorafgaande aan een bloeddonatie wordt de hond lichamelijk onderzocht en wordt vastgesteld dat de hond gezond is en geen bloedarmoede heeft. Als dit allemaal in orde is, wordt de hond tijdens een bloedafname gefixeerd en wordt via een halsader bloed afgenomen in een bloedzak met naald. In de zak zit citraat als ontstollingsmiddel. Het afgenomen bloed wordt verwerkt en in de koelkast/vriezer bewaard of direct aan de recipiënt (= de patiënt die behoefte heeft aan bloed) toegediend. De donorhond wordt ter observatie een dag gecontroleerd op eventuele neveneffecten van de donatie (bijv. nabloeden van de insteekopening) voordat hij wordt teruggeplaatst.

Titel studie: Vaardigheidsonderwijs Heelkunde

DEC nummer: 2014.III.11.102

Vaardigheidsonderwijs Heelkunde

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Assistenten in opleiding tot chirurg.

Opzet van het onderwijselement: Opzet van het onderwijs: De onderwijssessies beslaan vrijwel de gehele dag, waarbij begonnen wordt met een laparotomie (openen van de buik). Vervolgens wordt een aantal ingrepen geoefend, welke in onderling overleg tussen docent en

beide assistenten van tevoren zijn afgestemd. Zodoende kunnen de assistenten zich goed voorbereiden en kan ook gericht gewerkt worden aan 'problem solving' ten tijde van de operatie. Ook dit is iets dat op geen enkele andere wijze kan worden onderwezen. Het uiteindelijke doel is de assistenten een belangrijke stap voorwaarts op de leercurve laten doen zetten. Met de huidige bezetting wordt iedere assistent ten minste twee maal per jaar aan een dergelijke onderwijs sessie onderworpen. Deze onderwijsopzet wordt door zowel stafleden als assistenten zeer gewaardeerd.

Titel studie: Inductie van botvorming met geïnactiveerde bacteriën in een konijnen tibia model

DEC nummer: 2014.III.11.102

Botvorming na lokale behandeling met geïnactiveerde bacteriën in het konijn

Achtergrond: Lokale ontstekingsprocessen kunnen botvorming tot gevolg hebben. Vaak is dit ongewenste botvorming in gevallen van trauma. We hebben daarnaast in celkweken laten zien dat ontstekingsfactoren in kweeksystemen de vorming van botcellen uit stamcellen kunnen aansturen. De lokale inductie van een korte ontstekingsreactie is daarom mogelijk een nieuwe aanpak om botvorming te stimuleren bij patiënten met trage genezing van fracturen (bv. ouderen) of bij patiënten waar veel botvorming nodig is voor fusieoperaties van de wervels (bv. scoliose). Als toevalsbevinding hebben we een enorme hoeveelheid nieuwe botvorming gezien na lokale infectie in een konijnenmodel. In dit model wordt een infectie van

een implantaat in het scheenbeen nagebootst. We willen in dit huidige onderzoek onderzoeken of de ontstekingsreactie veroorzaakt door geïnactiveerde bacteriën, die niet prolifereren en geen bacterie-specifieke stoffen meer uitscheiden, dezelfde reactie op het bot teweeg brengt. Als dit inderdaad het geval is, hebben we een model van ontsteking-gestuurde botvorming waarin we de factoren kunnen gaan identificeren die bij het proces van botvorming betrokken zijn. Tegelijkertijd werken we naar een simpeler en veiliger model toe in konijnen voor vervolgstudies omdat er geen levende bacteriën nodig zijn. Doel/hypothese: Doel: onderzoeken of geïnactiveerde bacteriën, net als levende bacteriën, botvorming induceren in een bestaand infectiemodel in het konijn. Hypothese: geïnactiveerde bacteriën veroorzaken een lokale ontstekingsreactie wat het proces van botvorming aanstuurt, resulterend in een toename in het botvolume. Daarnaast verwachten we dat langzame afgifte van bacteriën een groter effect heeft op botvorming dan hun snelle afgifte. Globale aanpak vraagstelling: Het onderzoek met kweeksystemen alleen, is onvoldoende voorspellend om het effect van ontstekingsfactoren op de botvorming te bestuderen. Omdat ontstekingsfactoren ook betrokken zijn bij de botafbraak, kan men de complexe fysiologische situatie nooit nabootsten in een kweekstelsel in het lab. Er zijn op dit moment geen diermodellen om het onderliggende mechanisme van ontsteking-geïnduceerde botvorming te bestuderen. In voorgaande infectiemodellen, zagen we sterke botvorming in het scheenbeen van konijnen na lokale behandeling met *S.aureus* bacteriën. De vraag is nu of de ontstekingsreactie an sich de initiator was van de botvorming, of dat stoffen actief

uitgescheiden door de bacteriën hier een rol bij hebben gespeeld. Dit willen we onderzoeken in de aankomende studie, door levende bacteriën te vergelijken met geïnactiveerde bacteriën (prolifereren niet en scheiden geen bacterie-specifieke stoffen uit). Omdat we in voorgaande studie een hoger botvolume zagen in konijnen met een langdurige infectie, is de hypothese dat een langzame afgifte van geïnactiveerde bacteriën een sterker effect heeft op de botvorming. De procedure is als volgt: het kniegewricht van het konijn wordt via een kleine incisie opengemaakt. De dieren krijgen in de mergholte van het linker scheenbeen een titanium implantaat. Het rechter scheenbeen dient als interne controle. Er wordt op dag 0 en dag 28 (na terminatie) een hoge resolutie micro-CT scan gemaakt van het scheenbeen. De verandering van het volume van het scheenbeen op dag 28 ten opzichte van dag 0 is hierbij de belangrijkste uitkomst parameter. Omdat de geïnactiveerde bacteriën sneller door het immuunsysteem opgeruimd zullen worden, zal een groep met een hogere concentratie geïnactiveerde bacteriën ook meegenomen worden. Een laatste groep bevat geïnactiveerde bacteriën, opgelost in klinisch gebruikte wondlijm, voor langzame afgifte van bacteriën. Deze wondlijm heeft een langzame afbraak en zal dus een continue afgifte van bacteriën geven. Om meer details te kunnen geven over de locatie en verloop van de reactieve botvorming na ontsteking zullen de konijnen op twee tijdstippen onderhuids worden geïnjecteerd met fluorochromen. Deze moleculen worden in nieuwgevormd bot ingebouwd, wat na de explantatie met

een fluorescentiemicroscoop waar te nemen is. Zo kunnen we zien wanneer de botvorming ongeveer begonnen is en waar dit in het bot plaatsvindt.

Vergadering 17 december 2014

Titel studie: Mechanismen van voedselallergie: in vitro co-culture van BMDC met darm epitheelcellen

DEC nummer: 2014.III.12.104

Mechanismen van voedselallergie: in vitro activatie van immuuncellen in co-culture met darm epitheelcellen

Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen, maar ook bij volwassenen. Middels onderzoek in mens en dier en met behulp van het kweken van cellen in kweekbakjes, 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 kweekbakjes de reactie van een cellijn van darmepitheelcellen te veranderen. In dit onderzoek willen we nagaan of deze veranderingen in de reacties van darmcellen kunnen leiden tot de activatie van een bepaald type immuuncellen, die uiteindelijk bepalen of voedselallergie zal gaan ontstaan. Deze studies worden in kweekbakjes gedaan, maar de specifieke immuuncellen (dendritische cellen) moeten geïsoleerd worden uit het beenmerg van de achterpootjes van muizen, omdat geen cellijn beschikbaar is.

Globale aanpak vraagstelling: Donormuizen worden zonder verdere behandeling geëuthanaseerd, en de dendritische cellen worden uit het beenmerg van de achterpootjes geïsoleerd. Daarna worden ze in kweekbakjes samen gekweekt met andere cellen en blootgesteld aan

verschillende voedingsbestanddelen en voedingscontaminanten. Kennis uit dit onderzoek kan mogelijk worden ingezet om een screeningstool te ontwikkelen, om het risico van voeding op de inductie van voedselallergie te kunnen voorspellen en therapeutische mogelijkheden te onderzoeken.

Titel studie: Optimization of bone ingrowth in bone substitutes

DEC nummer: 2014.III.12.105

Botstimulatie in botvervangers

Achtergrond: Botvervangers worden steeds meer gebruikt bij de behandeling van grote botdefecten en niet helende botbreuken. Een groot nadeel van deze botvervangers is echter het ontbreken van de stimulans waardoor botvoorloper cellen veranderen in botcellen (osteïnductie), die een belangrijke rol spelen bij de vorming van bot. Dit kan wel gestimuleerd worden door een (groei)factor toe te voegen, maar botaanmaak is afhankelijk van meerdere factoren, onder andere van de tijd waarop de (groei)factor tot uiting komt. Eerder hebben we aangetoond dat er bij een relatief snelle uiting botformatie plaats vindt, maar mogelijk is deze botformatie nog beter indien de (groei)factor meer continu afgegeven wordt. Een nieuwe stof, gemaakt van gelatine, zou dit kunnen bewerkstelligen.

Doel/hypothese: Ontwikkelen van een verbeterde botstimulatie in botvervangers door gebruik te maken van langzame afgifte van groeifactoren.

Globale aanpak vraagstelling: We implanteren een titanium botvervanger met de (groei)factoren in een

bovenbeen van een rat, nadat we er zes millimeter bot uit gehaald hebben. We stabiliseren het gat in het bovenbeen door een plaat met schroeven rondom deze plek op het bovenbeen te zetten. We zullen dan later met een micro CT-scan de botformatie vervolgen. Tevens kijken we naar botgroei na de proef, door plakjes te snijden van het bot. Die kleuren we en dan kunnen we zien of er bot(cellen) aanwezig is/zijn in en rondom de botvervangers. Bij deze plakjes kunnen we ook het verloop van de botgroei over de tijd zien, omdat we gedurende het experiment meerdere keren verschillende kleuren vloeistof gebruiken die zich binden aan het bot en dan meegroeien met het nieuw gevormde bot. Op de plakjes kunnen we dan de lijntjes van de verschillende aan bot gebonden vloeistoffen zien. Als laatste kijken we naar de vaatgroei, omdat dat belangrijk is voor botgroei. Dit doen we door vloeistof in de vaten te spuiten, die we dan kunnen zien als we een micro-CT scan maken. De biologie van botgenezing is op geen enkele wijze na te bootsen, waardoor er geen goed alternatief is ter vervanging van deze dierproef.

Titel studie: VEGF-C controls spread of liver tumors via the liver lymphatic system

DEC nummer: 2014.III.12.106

Verspreiding blokkeren van leveruitzaaiingen van darmkanker

Achtergrond: Bij 10.000 mensen per jaar in Nederland wordt darmkanker vastgesteld. De helft heeft of krijgt uitzaaiingen in de lever, het orgaan dat al het bloed uit de darmen filtert. De prognose van leveruitzaaiingen is afgelopen jaren verbeterd door toegenomen behandelmo-

gelijkheden, zoals een operatie aan de lever. Helaas krijgt een deel van deze patiënten na de operatie uitzaaiingen buiten de lever, bijvoorbeeld in de lymfeklieren, longen en andere organen. Uitzaaiingen buiten de lever kunnen we (nog) niet goed behandelen en daarom is de prognose in dat geval slecht. In ons laboratorium hebben wij het genetisch materiaal onderzocht van leveruitzaaiingen van patiënten die een operatie ondergingen. Wij hebben hierin ontdekt dat tumoren die stoffen (m.n. "VEGF-C") maken die lymfeafvoer en groei van lymfevaten stimuleren, een veel slechtere prognose hebben. Op welke manier deze stoffen bijdragen aan een slechte prognose, is onbekend. Doel/hypothese: Onze hypothese is dat leveruitzaaiingen die VEGF-C maken, zich sneller kunnen uitzaaien in het lichaam door het lymfesysteem van de lever als route te gebruiken. Ons doel is om te bepalen hoe VEGF-C de verspreiding van leveruitzaaiingen beïnvloedt en of we dit tegen kunnen gaan door VEGF-C met medicijnen te blokkeren.

Globale aanpak vraagstelling: 1) We zullen bepalen welke delen van de lever naar welke lymfeklieren ("poortwachterklieren") draineren in muizen, door het verrichten van lymfestroomonderzoek ("lymfangiografie"). 2) We zullen bepalen of leveruitzaaiingen die VEGF-C maken, sneller uitzaaien buiten de lever en of remming van VEGF-C dit vermindert. Dit zullen we onderzoeken in een uniek model, waarin het mogelijk is om de leveruitzaaiingen en lymfevaten microscopisch te bekijken in levende muizen. We gebruiken muizen voor deze experimenten, omdat het onmogelijk is om bovenstaande processen in een kweekschachtje of anderszins te bestuderen.

Titel studie: Shoulder replacement in rabbits with a 3D-printed biodegradable scaffold

DEC nummer: 2014.III.12.107

Schoudervervanging in konijnen met een biologisch afbreekbaar implantaat

Achtergrond: Kraakbeen in gewrichten kan slijten door een ongeluk of door langdurig gebruik (artrose). Soms is het onderliggende bot ook aangedaan. Er zijn onvoldoende behandelmogelijkheden voor de behandeling van deze defecten, waarbij zowel bot als kraakbeen zijn aangedaan. In deze studie testen we een afbreekbaar implantaat, dat wordt geplaatst in het gewricht van konijnen.

Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is de ontwikkeling van een afbreekbaar implantaat ter regeneratie van bot en kraakbeenweefsel in een gewricht.

Globale aanpak vraagstelling: We hebben gekozen om het implantaat te testen in het schoudergewricht van konijnen, vanwege de relevante grootte van het gewricht en omdat een vergelijkbare behandeling al eens eerder is toegepast door een andere onderzoeksgroep. Het implantaat wordt met een 3D-printer vervaardigd als poreuze scaffold. De vorm van het implantaat lijkt op een reguliere schouderprothese en is gebaseerd op een CT-scan van een konijn. Het implantaat is gemaakt van een degradeerbaar materiaal zodat bot en kraakbeenweefsel de ruimte heeft om in te groeien. Het botgedeelte van de prothese is celvrij. De regeneratie van kraakbeenweefsel is meer uitdagend en minder goed uitgezocht dan dat van botweefsel. We brengen een aparte “kraakbeenlaag” aan in de scaffold, bestaande uit een gelatine hydrogel met

daarin verschillende ingrediënten, namelijk 1) kraakbeen-cellen of 2) een groeifactor. Groep 3 bevat een hydrogel zonder toevoegingen en is de negatieve controle in deze studie. We hopen een antwoord te krijgen of er voldoende botingroei is en of het beste kraakbeen wordt gevormd met cellen of groeifactoren. Alle drie groepen willen we eerst evalueren in een pilotstudie, om zeker te weten dat de mobiliteit van de konijnen voldoende herstelt van de ingreep en of het implantaat sterk genoeg is. Er bestaan helaas geen goede modellen van gewrichten, omdat het complexe organen zijn. Om de stap te maken van het laboratorium naar de toepassing in mensen zijn daarom proefdieren nodig als tussenstap.

Titel studie: BMP-2 en BMP-7 non-virale gen therapie voor bot regeneratie in een muizenmodel

DEC nummer: 2014.III.12.108

BMP-2 en BMP-7 gen therapie voor botregeneratie in een muizenmodel

Achtergrond: Klinische relevantie: In de kliniek zijn nieuwe therapieën om lokale botgroei te stimuleren hard nodig. De huidige therapie, transplantatie van lichaamseigen bot, is ontoereikend. Enerzijds omdat er slechts een beperkte hoeveelheid beschikbaar is, anderzijds omdat lichaamseigen donorbot kan resulteren in levenslange pijnklachten ter plaatse van de donorlocatie. Bone Morphogenetic Proteins: Groeifactoren van de Bone Morphogenetic Protein familie (BMP-2 & BMP-7) worden klinisch toegepast voor operaties aan de wervelkolom waar fusie van twee of meer opeenvolgende wervels het beoogde doel is. Naast

klinische toepassing van BMP-2 of BMP-7 als therapie, is er ook veel onderzoek gaande naar combinaties van BMP eiwitten. BMP-2 en BMP-7 gecombineerd, hebben in verschillende preklinische dier modellen laten zien in meer bot te resulteren dan één van de eiwitten apart. Een nadeel van het gebruik van BMPs in de kliniek, is dat zeer hoge doseringen van eiwit nodig zijn, vanwege een snelle afbraak na implantatie. Bijwerkingen die regelmatig gezien worden bij deze toepassing, worden aan de extreem hoge dosering toegeschreven. Lokale gereguleerde afgifte van BMPs: Wereldwijd wordt veel onderzoek gedaan naar toepassingen waarbij BMPs in een gereguleerde gedoseerde manier lokaal worden afgegeven. Gentherapie is een methode die lichaamseigen cellen of donorcellen bepaalde eiwitten kan laten produceren. Gen therapie met BMPs: Onze onderzoeksgroep heeft al uitgebreid onderzoek gedaan naar gentherapie met verschillende genen (een stuk erfelijk materiaal dat codeert voor een bepaald eiwit, in ons geval BMP eiwitten). Deze BMP-genen zijn ingebouwd en uitgebreid getest in het laboratorium. BMP-2 gen gecombineerd met BMP-7 gen resulteerde in de sterkste differentiatie stamcellen richting botcellen, vergeleken met monotherapie met BMP-2 en BMP-7 genen. Dit was in een kweekschaaftje. In dieren en mensen is het echter nog niet duidelijk of een gecombineerde gentherapie voordelig is. Transfectiemethode (een methode waarmee het gen de cel in gaat): De transfectiemethode die we momenteel gebruiken is transfectie middels alginaat hydrogel (een gel van zeewier die al jaren geleden gepatenteerd is als transfectiemethode). Echter, het lijkt erop dat er mogelijk een remmend effect is van het alginaat zelf op botvorming. Derhalve willen we in deze studie ook een

conditie onderzoeken waarbij we cellen buiten het lichaam transfecteren met lipofectamine (een stof die genen makkelijker door de cel opgenomen laat worden). Hierbij kan het aantal getransfecteerde cellen en gen expressie niveau beter gecontroleerd worden.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is non virale gentherapie optimaliseren door verschillende combinaties van genen te gebruiken, door te evalueren op botvorming in een ectopisch diermodel. Het tweede doel van deze studie is non virale gentherapie optimaliseren door twee verschillende transfectietechnieken te evalueren op botvorming in een ectopisch diermodel.

Globale aanpak vraagstelling: Deze studie heeft dezelfde opzet als studies uit verleden. Constructen bestaan uit een alginaat hydrogel plugje met keramische partikels en stamcellen. In het geval van alginaat gen therapie wordt het gen simpelweg door het alginaat gemixt. In het geval van transfectie buiten het lichaam worden de cellen eerst met de gen-lipofectamine complexen behandeld en dan door het alginaat gemengd. De constructen worden onderhuids in pockets geïmplantéerd met een maximum van vijf pockets per muis. Na een periode van zes weken, worden de constructen verwijderd en verwerkt voor hardweefsel histologie. In de histologische preparaten wordt de hoeveelheid bot gemeten.

Titel studie: Role of C/EBPa in TGF-beta driven breast cancer metastasis

DEC nummer: 2014.III.12.109

Rol van C/EBPa in TGF-beta gedreven metastasering in borstkanker

Achtergrond: Borstkanker is de belangrijkste kanker-gerelateerde doodsoorzaak in vrouwen. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door uitzaaiingen van de borst kanker waartegen geen effectieve behandelingen mogelijk zijn. Wij hebben een eiwit geïdentificeerd, C/EBPa, dat een mogelijke rol speelt bij het uitzaaien van borstkanker.

Uit onze in vitro proeven blijkt dat de aanwezigheid van het C/EBPa eiwit in cellen noodzakelijk is voor de werking van het TGF-beta eiwit, namelijk het remmen 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 te vormen. Deze gecombineerde TGF-beta activering en vermindering van C/EBPa 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 C/EBPa speelt in het uitzaaien van borstkanker. Onze hypothese is dat het tot overexpressie brengen van C/EBPa en dus hogere hoeveelheid van het C/EBPa eiwit het door TGF-beta gestimuleerde proces van uitzaaien van borstkankercellen in vivo kan voorkomen. En daarnaast dat verlaagde C/EBPa expressie uitzaaiing kan versnellen.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we humane borstkankercellen, welke zodanig zijn gemodificeerd zodat de TGF-beta signaleringsroute altijd actief is, inbrengen in een muis. Wij bepalen dan de eigenschappen van deze cellen om, in de aan- of afwezigheid van C/EBPa, uit te zaaien naar de longen en mogelijk andere locaties (zoals bijv. 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 zoals in dit gevallen in muismodellen mogelijk.

Titel studie: De rol van SOX4 op door Endothelin1 gereguleerde angiogenese inborstkanker

DEC nummer: 2014.III.12.110

De rol van SOX4 op door Endothelin1 gereguleerde angiogenese in borstkanker

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 de vorming van bloedvaten stimuleert via het eiwit Endothelin1 (ET-1). In aanwezigheid van SOX4 worden cellen gestimuleerd om ET-1 uit te scheiden wat vervolgens endotheelcellen aanzet tot het vormen van nieuwe bloedvaten. Sox4 in combinatie met ET-1 vormen hierdoor mogelijk een belangrijk aangrijppunt in

de behandeling van borstkanker.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bepalen van de rol van SOX4 op door Endothelin1 gedreven vorming van bloedvaten. Onze hypothese is dat vermindering van endothelin1 in de MDA-MB-231 kankercellen, de vorming van bloedvaten remt en hiermee de primaire tumorgroei en uiteindelijk mogelijk ook het uitzaaien van de MDA-MB-231 cellen, dit onder normale levels als verhoogde niveaus van SOX-4.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we humane borstkankercellen, waarin ET-1 minder en SOX4 meer tot expressie komen, inbrengen in een muis. Wij kunnen dan de eigenschappen van deze cellen bepalen, in de aan- of afwezigheid van SOX4 en ET-1, op de vorming van bloedvaten. Omdat er bij dit proces veel factoren invloed hebben zijn deze eigenschappen alleen goed te bestuderen in proefdieren, in onze proef dus in muizen.

Titel studie: In vitro sensitization with food proteins and small peptides in cow's milk allergy for studying their allergenicity and potential application as preventive intervention

DEC nummer: 2014.III.12.111

De reactie tegen voedsel eiwitten en kleine eiwit fragmenten in het kader van koemelkallergie

Achtergrond: Voedselallergie en voornamelijk koemelkallergie is een vaak voorkomende aandoening op vroege leeftijd. Deze aandoening kan ook bij volwassenen optreden. Door het feit dat er nog steeds geen effectieve profylactische of therapeutische strategieën zijn, is onderzoek in mens en dier gericht op risico's van eiwitten en eiwitfragmenten bepalen en potentiële nieuwe therapieën ontwikkelen. Het gebruikte model in deze studie is een middel om te kijken naar de risico's van nieuwe of veranderde eiwitten en kleine eiwitfragmenten op het ontwikkelen van allergische reacties en het werkingsmechanisme hierachter.

Doel/hypothese: In deze studie willen wij onderzoeken of wij met behulp van cellen van koemelkallergische muizen een model kunnen ontwikkelen waar de risico's van nieuwe of veranderde eiwitten en kleine eiwitfragmenten bepaald kunnen worden. Verder is het doel om het onderliggende mechanisme van interacties tussen allergische cellen te bestuderen.

Globale aanpak vraagstelling: Voor het bepalen van het risico op allergie tegen nieuwe of gemodificeerde eiwitten en kleine eiwitfragmenten wordt naast het muizen model voor voedselallergie ook een in vitro model gebruikt. De opzet van dit model bestaat uit twee delen:

1) Beenmergcellen van muis worden tot bepaalde immunologische celtypen gekweekt (allergen-presenting cells). 2) Muizen worden door middel van een injectie met voedsel eiwit (allergeen) allergisch gemaakt en vervolgens worden allergeen-specifieke cellen geïsoleerd. Hierna kunnen de “allergen-presenting” cellen gestimuleerd worden met nieuwe of veranderde eiwitten en kleine eiwitfragmenten en worden samengevoegd met de cellen uit de allergische muizen. Hiermee wordt 1) de reactie op een aantal verschillende eiwitten die mogelijk een verschillende allergeniciteit hebben bestudeerd en 2) het mechanisme achter deze interactie bestudeerd.

Titel studie: Canine liver organoid transplantation

DEC nummer: 2014.III.12.112

Lever organoïden transplantatie in de hond

Achtergrond: Momenteel is voor veel leverziekten bij mens en dier geen definitieve behandeling mogelijk. In veel gevallen is een levertransplantatie uiteindelijk de enige mogelijkheid, maar er is een tekort aan donororganen, waardoor patiënten op de wachtlijst komen te overlijden. Daarnaast bestaat de noodzaak tot levenslange onderdrukking van de afweer om afstoting van het lichaamsvreemde weefsel te voorkomen. Voor honden is levertransplantatie überhaupt geen optie en zijn de therapeutische mogelijkheden beperkter. Onze onderzoeksgroep zoekt alternatieve strategieën voor leverherstel en richt zich op het gebruik van stamcellen die zich in de volwassen lever bevinden. Onze groep heeft voor de hond een kweekmethode ontwikkeld, waarbij uit de lever

stamcellen kunnen worden geïsoleerd en opgekweekt als zogeheten leverorganoïden. Het is nu mogelijk om uit een leverbiopt van een hond leverstamcellen te halen, ze te vermenigvuldigen tot voldoende aantallen, waarna er volwassen levercellen van gemaakt kunnen worden en transplantatie van lichaamseigen cellen kan plaatsvinden. Momenteel is ook de isolatie en kweek van leverorganoïden van de mens in ontwikkeling op het Hubrecht Instituut. Om tot klinische toepassing bij de mens te komen is eerst ervaring nodig in een juist diermodel. Er is gebleken dat het biologische proces van leverherstel bij de hond sterk lijkt op de mens, waardoor studies bij de hond een grote voorspellende waarde hebben voor nieuwe therapieën bij de mens.

Doel/hypothese: We verwachten dat leverorganoïden na transplantatie in de hond zich innestelen in het leverweefsel en zich gaan vermenigvuldigen. Wanneer uiteindelijk 2-5% van de levercellen afkomstig is van de getransplanteerde gezonde organoïden-cellen kan dat al voldoende zijn om bepaalde stofwisselingsziekten van de lever te genezen. Daarom willen we dit testen in een hond die een erfelijke koperstofwisselingsziekte heeft, die lijkt op de ziekte van Wilson bij de mens. Deze ziekte leidt tot leverontsteking en -verbindweefseling op termijn, wat we willen voorkomen met deze transplantatie. Globale aanpak vraagstelling: In de voorgenumen studie wordt een lichaamseigen leverorganoïd-transplantatie uitgevoerd in honden met een koperstofwisselingsziekte. Van de honden worden leverbiopoten genomen om hun leverstamcellen te verkrijgen en als organoïden op te kweken. Dan wordt in de cellen het effect van het verkeerde kopergehalte hersteld, door het inbrengen van

het juiste kopergeen. Op die manier kunnen aan dezelfde hond zijn gezond gemaakte cellen worden teruggegeven. Dit kan uitsluitend in een levend dier worden getest. De aanwezigheid van een gezond gen in de getransplanteerde cellen zorgt ervoor dat het koper normaal kan worden uitgescheiden, er geen stapeling meer plaatsvindt in de lever en geen leverontsteking ontstaat. Dit zullen we met leverbiopten op de korte en lange termijn onderzoeken. Deze studie in de hond kan ook bijdragen aan de realisatie van een nieuwe celtherapie voor stofwisselingsziekten van de lever bij de mens. Dit is een klinisch probleem dat vaak bij pediatrische patiënten (kinderen) wordt gezien. Daarom werken wij samen met het Wilhelmina Kinderziekenhuis om organoïden-transplantatie in een relevant groot diermodel (de hond) te testen. Hond en kind hebben een vergelijkbare lichaamsgrootte, wat vergelijkbare klinische mogelijkheden en vraagstukken met zich meebrengt (injectieroute in de poortader, mogelijkheid tot katheterplaatsing, monitoring tijdens/na transplantatie, lange termijn follow up). Kennis en ervaring die bij onze studie wordt opgedaan heeft dus directe gevolgen voor de realisatie en implementatie van deze nieuwe therapie voor humane (pediatrische) leverpatiënten.

Titel studie: Heeft de mycotoxine Deoxynivalenol (DON) tijdens zwangerschap invloed op de ontwikkeling van allergie bij nakomelingen?

DEC nummer: 2014.III.12.113

Heeft de giftige stof deoxynivalenol (DON), die voorkomt in graangerelateerde producten, tijdens de zwangerschap bij muizen invloed op de ontwikkeling van allergieën bij de nakomelingen?

Achtergrond: Een mycotoxine is een gif geproduceerd door schimmels. Deoxynivalenol (DON) is een voorbeeld van zo'n mycotoxine en is de meest voorkomende mycotoxine in granen en graangerelateerde producten, zoals tarwe, gerst en mais. Meer dan 90% van de Europese plantaardige productie bevat DON. Iedereen die graangerelateerde producten eet, komt dus in aanraking met DON. Voorgaand onderzoek van onze groep heeft aangetoond dat de mycotoxine DON:

- De darmbarrière kapot maakt, zodat “verkeerde” stoffen, zoals gifstoffen of allergische stoffen (allergenen) makkelijker het lichaam binnen kunnen dringen.
- Een ontsteking veroorzaakt in de darm, waardoor de darm gevoeliger wordt.
- Tevens is in ons onderzoek aangetoond dat DON kan bijdragen aan de ontwikkeling van allergieën voor pinda's en melkeiwit.

Na deze bevindingen willen we 1 stap verder gaan en onderzoeken of DON in het dieet van zwangere vrouwen ook invloed heeft op de ontwikkeling van (voedsel) allergieën bij de nakomelingen.

Doel/hypothese: Wij willen onderzoeken of de giftige

stof deoxynivalenol (DON) in het dieet van zwangere muizen invloed heeft op de ontwikkeling van allergieën bij de nakomelingen.

Globale aanpak vraagstelling: Wij willen zwangere muizen een dieet met of zonder de mycotoxine DON geven en daarna gaan we in de nakomelingen kijken of zij als gevolg van het DON dieet gevoeliger zijn voor het ontwikkelen van voedselallergie dan de nakomelingen van moeders die het controle dieet hebben gekregen. Omdat het in dit onderzoek gaat om interactie van verschillende systemen (moeder-nakomeling) is het gebruik van proefdieren noodzakelijk. Tijdens de zwangerschap vinden er complexe veranderingen plaats in het immuunsysteem van de moeder(muis), die niet na te bootsen zijn met bijvoorbeeld cellijnen. Ook het effect van de giftige stof DON in de moeder en nakomelingen is dermate ingewikkeld dat hiervoor nog geen proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.

Titel studie: Liver progenitor cell expansion in Dyrk1a overexpression mice

DEC nummer: 2014.III.12.114

Onderzoek naar celdeling van leverstamcellen

Achtergrond: Lever stamcellen zijn belangrijk voor leverherstel en fungeren als een reserve-systeem als er schade ontstaat aan de lever. Met ons onderzoek proberen we te achterhalen welke signalen deze cellen nodig hebben om te gaan delen wanneer leverschade optreedt. We hebben inmiddels gevonden dat een van deze signalen op chromosoom 21 ligt, het chromosoom waarvan een extra kopie aanwezig is in mensen met het

syndroom van Down. Dit is nog niet eerder gevonden en kan gevolgen hebben voor mensen met het syndroom van Down die een leverziekte krijgen.

Doel/hypothese: We willen onderzoeken of in een muizenmodel, waarbij een extra kopie van dit signaal aanwezig is, de stamcellen in de lever zich anders gedragen als er leverschade ontstaat.

Globale aanpak vraagstelling: Om de leverschade op te wekken gebruiken we een speciaal soort voer, wat in gezonde muizen binnen 3 weken leidt tot activatie van het reservesysteem: de lever stamcellen. Dit voer is al eerder gebruikt door onderzoekers binnen de Faculteit Diergeneeskunde en is een valide model voor leverziekten. Om te kijken wat de invloed van ons gevonden signaal is op de lever stamcellen maken we gebruik van een muizenmodel waarbij een extra kopie van dit signaal aanwezig is. We vergelijken dit met gezonde muizen uit hetzelfde nest. Na 3 weken worden de muizen gedood en kunnen we in de lever de stamcellen onderzoeken. We verwachten dat we verschillen kunnen aantonen met deze dierproef, omdat we al eerder in kweeksystemen (waarvoor geen muizen hoefden te worden gedood) dit verschil hebben gezien. De kans van slagen is dus groot. Toch is nu nog een dierproef nodig om aan te tonen dat de stamcellen zich in de lever anders gedragen als er schade optreedt, dit is niet in kweeksystemen volledig na te bootsen. Als onze verwachting bevestigd wordt zou dat kunnen betekenen dat mensen met het syndroom van Down een verminderde reserve capaciteit hebben tijdens een leverziekte. Dit zou kunnen leiden tot een klinische behandeling met al bestaande remmers van het gevonden signaal waardoor

de reserve capaciteit bij mensen met het Down syndroom kan herstellen en er een grotere overlevingskans is bij ernstige leverziekten.

Titel studie: Patiënt-afgeleid levertumormodel: pilot ter beoordeling van gedrag van organoïden na verschillende manieren van toediening in naakte muizen

DEC nummer: 2014.III.12.115

Een patiënt-afgeleid levertumormodel

Achtergrond: De huidige behandelmogelijkheden van kanker zijn vaak niet afdoende. Tumoren zaaien uit of ontwikkelen resistentie tegen de behandeling, waardoor het regelmatig voorkomt dat tumoren opnieuw ontstaan of weer gaan groeien. Een nieuwe benadering van dit probleem is het toepassen van een gepersonaliseerde kankerbehandeling, waarbij de therapie wordt gebaseerd op specifieke kenmerken van de individuele tumor. Om deze kenmerken te onderzoeken, is het noodzakelijk van elke individuele tumor een goed laboratoriummodel te kunnen maken. Een veelbelovende techniek hiervoor is de organoïdenkweek, waarbij tumorweefsel van de patiënt wordt gebruikt om kleine 3D-structuren bestaande uit cellen te kweken.

Doel/hypothese: Het hoofddoel van deze studie is om deze 3D-structuren in een muis te transplanteren zodat we een diersmodel kunnen maken van elke individuele tumor. Hiervoor wordt met deze studie onderzocht op welke plek de organoïden het beste geïnjecteerd kunnen worden.

Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studie wordt gebruik gemaakt van 25 naakte muizen zonder thymus gebruikt. Deze muizen missen door het afwezig zijn van de thymus een bepaald deel van het immuunsysteem, waardoor ze getransplanteerd weefsel niet zullen afstoten. De organoïden worden bij deze muizen ofwel onder de huid, ofwel in de milt, ofwel in de lever geïnjecteerd. Vervolgens wordt de ontwikkeling van de tumoren in de muizen gevolgd. Het is noodzakelijk om deze studie in een dierexperiment uit te voeren, omdat de effectiviteit van een behandeling mede bepaald wordt door factoren afhankelijk van de interactie tussen tumor en patiënt. Deze interactie is in het laboratorium niet goed na te bootsen aangezien deze factoren nog niet geheel in kaart zijn gebracht.

Titel studie: Bepalen van de resterende sensitizatie-capaciteit van 2 gemodificeerde koemelkeiwitten (wei-hydrolysaten) in verschillende concentraties in een muismodel voor koemelkallergie

DEC nummer: 2014.III.12.116

Onderzoeken van de sensitizatie-capaciteit (eigenschap om muizen gevoelig te maken voor een eiwit) van aangepaste koemelkeiwitten in een muismodel voor koemelk allergie

Achtergrond: Er is momenteel nog geen goede behandelmethodes voor kinderen met een (ernstige) voedselallergie. Het ontwijken van de eiwitten die de allergie veroorzaken (allergenen), in dit geval koemelk-eiwitten, is dan de enige optie om de ziekte te voorkomen. In deze studie wordt onderzocht of aangepaste (gemodificeerde) melkeiwitten nog de eigenschappen bezitten om een

muis gevoelig te maken voor het allergeen (=sensitiseren).

Doel/hypothese: De overgebleven sensitisatie-capaciteit bepalen van gemodificeerde koemelkeiwitten.

Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden al dan niet allergisch gemaakt voor wei-eiwitten door middel van orale gavage. De interventie (behandel) groepen worden behandeld met de gemodificeerde eiwitten. Na challenge met het hele eiwit wordt onderzocht of de muizen gesensitiseerd zijn.

Titel studie: Effecten van 6 probiotica-species in muismodel voor voedselallergie en allergisch astma

DEC nummer: 2014.III.12.117

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

Achtergrond: Voedselallergie en allergisch astma worden een steeds groter probleem. De afgelopen jaren is er een voedselallergiemodel en allergisch-astmamodel in de muis opgezet in ons onderzoekscentrum. Naast immunologische metingen, worden ook functionele darm- en/of longveranderingen 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 corticosteroiden 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 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 werkingsmechanisme van probiotica uit dezelfde familie, die effectief zijn gebleken in een eerdere studie. Dit onderzoek geeft meer inzicht in het werkingsmechanisme van probiotica, wat kan leiden tot een meer gerichte dieetinterventie.

Globale aanpak vraagstelling: Dieren worden allergisch gemaakt voor een voedsleiwit, of huisstofmijt voor het induceren van allergisch astma. Na enkele weken worden de muizen opnieuw blootgesteld aan het eiwit of de huisstofmijt. Onderzocht wordt of de diëten de allergische klachten in de muis kunnen verminderen. Complexe pathofysiologische veranderingen liggen ten grondslag aan het ontstaan van voedselallergie, daarom hebben we het intacte dier (muis) nodig. Om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken plannen we zoveel mogelijk dieren op één dag om het aantal controlegroepen te beperken en worden er verschillende parameters in hetzelfde dier gemeten.

Titel studie: Onderzoek naar de pathogenese van colibacillose bij vleeskuikens

DEC nummer: 2014.III.12.119

Onderzoek naar het ziekteverloop van bacteriële infecties die optreden bij vleeskuikens als complicatie van luchtweginfecties

Achtergrond: Vleeskuikens worden bij besmetting met de E. coli 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. Het antibioticagebruik in de commerciële pluimveehouderij dient ook vanwege humane antibioticaresistentie problematiek drastisch gereduceerd te worden. Het beter begrijpen van de ziektegeschiedenis van etterige processen veroorzaakt door de E. coli bacterie bij vleeskuikens, wordt vervolgens gebruikt voor het zoeken naar alternatieven om zieke kuikens te behandelen en /of te zorgen dat deze kuikens minder vatbaar zijn voor het aanslaan van deze bacterie. Dit zal leiden tot het reduceren van het gebruik van antibiotica in de vleeskuikensector.

Doel/hypothese: 1) Een verstoring van het afweer systeem kan ervoor zorgen dat het afweersysteem tijdelijk niet goed functioneert waardoor de E. coli bacterie gemakkelijk binnen kan dringen en schade kan toebrengen. We willen onderzoeken hoe dit werkt: wat is het effect van virale luchtweginfecties op de functie van het

afweersysteem en hoe komt het dat de bacterie makkelijker kan binnendringen na een dergelijke infectie. 2) Uiteindelijk doel is om in de toekomst het probleem met colibacillose (etterige processen) bij vleeskuikens doelgericht en effectiever te ondervangen.

Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken wat het effect is van luchtweginfecties op het afweersysteem van de kip en op een infectie met de E. coli bacterie zullen we niet uitkomen onder het gebruik van proefdieren. Het nabootsen van een afweersysteem met de interacties tussen de verschillende organen is in deze tijd nog niet mogelijk. Om die reden gaan we kippen besmetten met een virus wat een luchtweginfectie veroorzaakt al dan niet gevolgd door een besmetting met de E. coli bacterie. Vervolgens worden de dieren op verschillende dagen na besmetting gedood. De pluimveedierenarts onderzoekt hoe ziek de kip is en vervolgens halen we verschillende organen uit het dier. Op het laboratorium worden de cellen van het afweersysteem gekarakteriseerd, geteld en wordt de activiteit van het afweersysteem gemeten. Door verschillende virussen te gebruiken kunnen we vaststellen of een verhoogde kans op bacteriële infecties na een luchtweginfectie een algemeen verschijnsel is, of dat het slechts bij bepaalde virussen optreedt. Dit geeft inzicht in de factoren die betrokken zijn bij een verhoogde kans op bacteriële infecties na luchtweginfecties.

Titel studie: Mechanisme van immunotherapy: Veranderingen in het immuunsysteem bij subcutane en orale immunotherapie in combinatie met Lcfos/scfos

DEC nummer: 2014.III.12.120

Inzicht in het werkingsmechanisme van immunotherapie in combinatie met prebiotica in een model voor pinda- en koemelkallergie

Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen, maar ook bij volwassenen. Deze allergie is ernstig en niet te genezen. Door ons onderzoek in proefdieren wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen voor zowel pinda- als koemelkallergie. Subcutane allergeen-specifieke immunotherapie (onder de huid injecteren van het allergisch makende eiwit) en orale allergeen-specifieke immunotherapie (via de slokdarm toedienen van het allergisch makende eiwit) zijn mogelijke therapieën voor voedselallergie. Helaas zijn deze therapieën door het optreden van ernstige bijeffecten nog niet in gebruik voor voedselallergie bij mensen. Eerdere onderzoeken hebben laten zien dat orale en subcutane immunotherapie de allergische respons verlagen en dat prebiotica (immuun-modulerende suikers in het dieet die de groei van gunstige bacteriën in de darm bevorderen) een positief effect hebben op de therapie. In deze aanvraag willen we het werkingsmechanisme van zowel subcutane als orale immunotherapie in combinatie met prebiotica onderzoeken, om de behandeling te optimaliseren en geschikt te maken voor toepassing bij mensen.

Doel/hypothese: Het doel van deze aanvraag is om het werkingsmechanisme van subcutane en orale immunotherapie in combinatie met prebiotica te onderzoeken. Globale aanpak vraagstelling: Omdat in een eerder onderzoek is aangetoond dat zowel subcutane als orale immunotherapie effectief de allergische response in een pinda- en koemelkallergiemodel kunnen verlagen, willen we in deze aanvraag kijken hoe het werkingsmechanisme van deze therapie in elkaar steekt. Daarnaast is het belangrijk om te onderzoeken hoe de prebiotica de immunotherapie ondersteunen. Na het allergisch maken van muizen tegen pinda's of melkeiwit, ontvangen deze subcutane of orale immunotherapie. Door een serie blootstellingen aan pinda's of melkeiwit na deze immunotherapie, wordt gekeken of deze therapie succesvol allergische reacties kan voorkomen. Ook wordt er door het voer te verrijken met zogenaamde fos/fos suikers (prebiotica) gekeken of subcutane of orale immunotherapie verbeterd en veiliger gemaakt kan worden. Om het werkingsmechanisme te onderzoeken, zullen we de behandelgroepen op verschillende tijdstippen uit de studie halen voor sectie en parameteronderzoeken in bloed en weefsels. Dit zal inzicht geven in de veranderingen die zijn opgetreden door het uitvoeren van de therapie in combinatie met de dieetinterventie. We leren hierdoor welke veranderingen verantwoordelijk zijn voor de uiteindelijke verlaging van de allergische respons. Deze informatie zal bijdragen aan het optimaliseren van de behandeling en het uiteindelijk geschikt maken voor toepassing bij mensen. Dit onderzoek wordt gedaan in proefdieren om twee redenen: Immunotherapie kan nog steeds niet in voedselallergie

gebruikt worden, door het hoge risico op bijwerkingen in de mens. Het verbeteren van deze therapie kan daarom ook alleen in de muis.

Het ophelderen van het werkingsmechanisme van deze therapie kan voor een deel ook alleen in de muis door de gebruikte parameters en door de isolatie van darmweefsels.

ANDERE VERGUNNINGHOUDERS

Diervoederbedrijf

Titel studie: 1. Ruminal pH and carbohydrate fermentation characteristics of growing cattle fed on high-concentrate feeding programs.
2. Controlling ruminal and intestinal starch digestion via amylase inhibition

DEC nummer: 2014.III.01.006

Pens fermentatie en darm verteringskinetiek in niet-lacterende herkauwers

Achtergrond: Groeiende herkauwers worden rantsoenen gevoerd met een hoog aandeel niet-structurele koolhydraten (zoals zetmeel). Reeds aanwezige kennis op dit gebied voor melkvee kan niet direct worden toegepast voor vleesvee vanwege de verschillen in het pens milieu en de daardoor ontstane verschillen in fermentatie kinetiek. Door het vergroten van de kennis omtrent het fermentatie gedrag van grondstoffen en/of door het beïnvloeden van de snelheid van zetmeel fermentatie in de pens van herkauwers die dit soort rantsoenen worden gevoerd kan zowel de pens-gezondheid (en dus diergezondheid) als ook de benutting van de aangeboden voedingsstoffen en uitstoot van mineralen naar het milieu worden verbeterd.

Doel/hypothese: Het eerste doel van dit onderzoek is om de kennis te verhogen omtrent het fermentatie gedrag van koolhydraat-rijke grondstoffen in herkauwers

op een rantsoen hoog in het aandeel niet-structurele koolhydraten. Het tweede doel is het valideren van de effectiviteit van een product dat de snelheid van de zetmeelafbraak in pens kan beïnvloeden en als gevolg daarvan kan helpen in het handhaven van een normale zuurgraad in de pens.

Globale aanpak vraagstelling: Het verteringssysteem van herkauwers, en dan met name de pens, is een complex systeem met veel onbekende interacties. Om deze reden kan het beschreven onderzoek niet plaats vinden zonder gebruik te maken van het doeldier. Voor de uitvoering van het onderzoek worden verschillende rantsoenen aan de dieren gevoerd. Via een pensfistel worden kleine zakjes met verschillende voedermiddelen in de pens gebracht waarmee de afbraak van deze voedermiddelen kan worden bepaald. Om inzicht te krijgen in de totale benutting van het voer worden ook bloed, mest en urine monsters verzameld.

Titel studie: Ontwikkeling van een Salmonella infectiemodel op het Swine Research Centre

DEC nummer: 2014.III.01.007

Ontwikkeling van een Salmonella infectie model bij varkens

Achtergrond: Salmonellose is een van de belangrijkste oorzaken van darmaandoeningen, veroorzaakt door bacteriën bij mensen. Dit kan overgedragen worden door met Salmonella besmet voedsel, zoals bijvoorbeeld 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 model te ontwikkelen waarin het effect van voedingsinterventies getest kan worden op de besmetting van Salmonella bij varkens.

Doel/hypothese: Het ontwikkelen van een Salmonella infectie model, waarmee de effecten van dieet-interventies op de besmetting van varkens met Salmonella kan worden gemeten.

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 laboratorium getest kan worden. In een eerste pilot Salmonella infectie experiment is bepaald dat een hoge dosis van Salmonella nodig is om de dieren te infecteren met Salmonella en uitscheiding van Salmonella te kunnen kwantificeren. In het komende experiment willen we het model verder versterken door de Salmonella op een meer natuurlijke wijze aan de dieren te geven, alsmede ook de duur van de infectie en het effect van de basisvoersamenstelling. Verder wordt in dit experiment ook een dieet-interventie meegenomen om te bepalen of het model geschikt is om verschuivingen in de salmonella uitscheiding te meten. Aan de hand hiervan kunnen we bij een volgende studie berekenen hoeveel dieren nodig zijn om een beoogd effect aan te tonen.

Titel studie: The development of nutritional solutions to improve health and performance of calves

DEC nummer: 2014.III.04.045

De invloed van voeding op de groei en gezondheid van kalveren

Achtergrond: Een gezonde groei van kalveren die gehouden worden voor de melkveehouderij of voor de productie van vlees is belangrijk voor veehouders. Vanwege een stijgende resistentie tegen antibiotica bij mens en dier moet het medicijngebruik in de dierhouderijsector worden verminderd. Bovendien is het uit oogpunt van dierwelzijn wenselijk dat dieren zo gezond mogelijk opgroeien. Daarnaast moet efficiënt worden omgegaan met grondstoffen om dierlijk eiwit op een duurzame manier te produceren. De ontwikkeling van voedingsmiddelen die een bijdrage doen aan gezondheid of benutting van grondstoffen, dragen daarmee bij aan een duurzame voedselproductie.

Doel/hypothese: Voeding die de gezondheid en ontwikkeling van kalveren ondersteunt leidt tot een efficiëntere melk-/vleesproductie en een lager medicijngebruik.

Globale aanpak vraagstelling: In dit project worden kalveren met verschillende voeders of voedingscomponenten gevoerd. Het effect hiervan op zowel de groei en ontwikkeling als wel de gezondheid wordt onderzocht. Het gebruik van kalveren ligt het meest voor de hand aangezien dit ook het doeldier is. Naast algemene parameter zoals beschreven worden ook meer specifieke parameters onderzocht (bijv. bloed, feces, urine, incidenteel analyse van organen na euthanasie).

Titel studie: Health and performance of pigs
DEC nummer: 2014.III.06.056

Voedingstrategieën voor gezondere varkens

Achtergrond: Darmgezondheid is essentieel voor de algehele gezondheid en welzijn van het varken. Dit is met name het geval in de periode na het spenen. Hierbij spelen bij de jonge big de maturatie van maag-darm systeem, de darmflora en het immuunsysteem en hun onderlinge interactie een belangrijke rol. Na het spenen treden daarom in de praktijk vaak ernstige maag-darmproblemen op en wordt er veel antibiotica ingezet. Verder is het optimaal verlopen van het verteringsproces als gevolg van een goede darmgezondheid de basis van een efficiënte groei en een duurzame varkenshouderij. Met aangepaste voeding kunnen verteringsproblemen worden verminderd en kan de ziekteweerstand worden verbeterd. Door de maatschappelijke druk op het gebruik van antibiotica in de varkenshouderij neemt de behoefte aan nutritionele maatregelen om de gezondheid van de dieren te bevorderen sterk toe. Diervoeder-ingrediënten moeten uiteraard grondig getest worden voordat zij wereldwijd kunnen worden ingezet.

Doel/hypothese: Via aanpassingen in de voeding is het mogelijk de gezondheid status van varkens positief te beïnvloeden.

Globale aanpak vraagstelling: Het toevoegen van veelbelovende voedingsmiddelen aan voer voor varkens om vervolgens het effect op hun gezondheid te beoordelen. Voederproeven met pas gespeende biggen, verteringsproeven met biggen en vleesvarkens onder verschillende hygiëne/houderij condities.

Titel studie: De effecten van voer- en water interventies op Salmonella geïnfecteerde varkens

DEC nummer: 2014.III.07.063

Salmonella controle bij varkens

Achtergrond: Salmonellose is een van de belangrijkste oorzaken van darmaandoeningen veroorzaakt door bacteriën bij mensen. Deze kan overgedragen worden door met Salmonella besmet voedsel, zoals 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.

Doel/hypothese: Het testen van de effectiviteit van dieet-interventies op de besmetting van varkens met Salmonella.

Globale aanpak vraagstelling: Voor het testen van dieet-interventies tegen Salmonella bij varkens is het noodzakelijk dit in het doeldier te doen, omdat de kolonisatie van Salmonella in de darm van varkens niet in het laboratorium getest kan worden. In het ontwikkelde model worden voedings- en drinkwater interventies getest op biggen. Biggen krijgen gedurende vier weken een voer- en of waterinterventie. Dan worden de biggen geïnfecteerd met Salmonella. De uitscheiding van Salmonella wordt gevolgd gedurende een aantal weken en aan het einde van de proef wordt de kolonisatie van Salmonella in lymfeknopen bepaald. Verder worden lichaamstemperatuur, voeropname, diarreescore en lichaamsgewicht tijdens de proef bepaald.

Titel studie: I Kwantificeren en voorspellen van natuurlijke variatie en variatie als gevolg van behandeling in relatie tot afbraak van voedermiddelen II Effect van natuurlijke additieven en van voedermiddelen op pens-pH

DEC nummer: 2014.III.10.090

Verhogen van de levensduur van melkvee door het optimaliseren van de pensgezondheid

Achtergrond: Een gezond functionerende pens bij melkvee betekent minder gezondheidsproblemen en een verbeterde vruchtbaarheid, waardoor de levensduur van melkvee kan worden verlengd. De gezondheid van de pens wordt met name bepaald door een optimale zuurtegraad (pH). Nauwkeuriger inschatting van de variatie in de afbraak van voedermiddelen in de pens betekent de mogelijkheid om de pH beter te controleren. Daarnaast kan de pH gestuurd worden door middel van natuurlijke additieven. Een optimale pH leidt tevens tot een betere benutting van de opgenomen nutriënten waardoor minder uitstoot van nutriënten (zoals stikstof en fosfor) en van methaan naar het milieu plaatsvindt.

Doel/hypothese: I. Het vergroten van het inzicht in de afbraakkenmerken en hun beïnvloedende factoren in voedermiddelen voor melkvee, gericht op een constantere pens pH. II. Met natuurlijke additieven gericht sturen op een optimaal functionerende en dus gezonde pens.

Globale aanpak vraagstelling: De pens van herkauwers is een complex ecosysteem met vele onbekende interacties. Om deze reden kan dit onderzoek niet uitgevoerd

worden zonder melkvee met een pensfistel. Een fistel is een operatief aangebrachte opening in de wand van de pens waarin een rubberen ring met een dop wordt geplaatst. Na het verwijderen van de dop, kunnen kleine zakjes met verschillende voedermiddelen in de pens worden gehangen. Hiermee wordt de afbraak van de voedermiddelen gemeten om de variatie en de afbraak te kunnen voorspellen door middel van grondstof specifieke kenmerken. Met behulp van een pH-meter kan het effect van verschillende natuurlijke additieven op het functioneren van de pens worden bepaald.

CellCoTec

Titel studie: The Efficacy of Cell-Mix-Carrier Constructs for the Treatment of Chondral Defects of Articular Cartilage

DEC nummer: 2014.III.08.072

Cel gebaseerde technieken om kapot kniegewrichtskraakbeen te laten herstellen

Achtergrond: Gewrichtskraakbeen heeft een zeer slecht vermogen om te herstellen na beschadiging. Helaas loopt het aantal beschadigingen van gewrichtskraakbeen van de knie op. Deze beschadigingen leiden tot pijn, verminderde mobiliteit en verhogen de kans aanzienlijk dat er al op vroege leeftijd een gewrichtsprothese nodig is. Met behulp van patiënteigen kraakbeen- en beenmergcellen kan het kapotte kraakbeen echter zo behandeld worden

dat regeneratie, dat is herstel vanuit lichaamseigen cellen, optreedt en zo pijn, functieverlies en prothese-plaatsing kunnen worden vermeden of uitgesteld.

Doel/hypothese: Het doel van dit project is de meest stabiele en functionele combinatie van patiënt eigen cellen en dragermaterialen vast te stellen, waarbij de nadruk ligt op het kunnen behandelen in de kliniek van beschadigde kraakbeenoppervlakken groter dan 3-4 vierkante centimeter in een eventuele situatie van arthrose.

Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van celkweek in het laboratorium kan de levensvatbaarheid van celmix-dragermateriaal combinaties getest worden. Zo'n combinatie bestaat dan bijvoorbeeld uit kraakbeen- en beenmergcellen in een specifieke gel, en wordt ook wel een construct genoemd. Het vermogen van dat construct om het juiste type gewrichtskraakbeen te vormen terwijl het wordt blootgesteld aan vloeistofstromen (die de stevigheid van het construct testen) en hormonale schommelingen (die de efficiëntie van de celmix in dat dragermateriaal testen) moet eerst gemeten worden in muizen, voordat 'opgeschaald' wordt naar tests in een anatomisch relevant gewricht. Om de efficiëntie van een celmix-dragermateriaalconstruct in het maken van het juiste type kraakbeen in het levende organisme te meten, worden kleine exemplaren van dat construct onderhuids in muizen gezet. In één muis kan op vier posities op de rug een klein construct geplaatst worden. Na plaatsing duurt de proef acht weken. Na die periode is er kraakbeen gegroeid als het construct goed werkt. Omdat we liever geen twee exemplaren van één construct in eenzelfde muis zetten, en van elk construct acht exemplaren willen testen, zetten we meestal proeven in met acht muizen. Per muis zitten er

dan drie verschillende constructen en een controlegroep-construct onder de rug huid. Na acht weken wordt de muis opgeofferd en worden de vier constructen uit het dier gehaald voor histologische analyses.

Genmab

Titel studie: Onderzoek in micrometastase modellen in muizen met optical imaging

DEC nummer: 2014.III.01.012

Ontwikkeling van humane monoclonale antistoffen voor kankertherapie/onderzoek in micrometastase modellen in muizen met optical imaging

Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe en verbeterde antistoffen voor gebruik in de behandeling van kanker bij mensen: 1) er worden antistoffen gekoppeld aan een toxische stof om de kanker effectiever te kunnen behandelen en 2) er worden antistoffen gegenereerd die kunnen binden aan twee verschillende eiwitten op kankercellen (bispecifieke antistoffen) om zo deze kankercellen efficiënter te kunnen doden.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om kennis over de effectiviteit en het werkingsmechanisme van deze nieuwe kanker-specifieke antistoffen te verkrijgen ter voorbereiding en ondersteuning van klinische evaluatie in kanker patiënten.

Globale aanpak vraagstelling: Er zal onderzoek gedaan worden in transplantatie modellen, waarbij kankercellen afkomstig van de mens geïmplant worden a) in de bloedvaten van de muis, b) op de plaats waar de kanker

oorspronkelijk ontstaan is (o.a. borst en huid) of c) in de buikorganen van de muis. Afhankelijk van de effectiviteit van de therapeutische antistoffen zullen de kankercellen al dan niet uitgroeien tot microtumoren en/of uitzaaiingen opleveren. De ontwikkeling van tumormetastasen en uitzaaiingen kan gevolgd worden, doordat de gebruikte kankercellen luciferase bevatten (een enzym dat een substraat om kan zetten in licht ofwel bioluminescentie). De bioluminescentie kan gemeten worden met behulp van een specifieke detectie techniek (optical imaging) en de hoeveelheid licht is een maat voor de tumorgrootte. De groei van de kankercellen kan op deze manier gevolgd worden alvorens er ongerief voor de muis plaatsvindt. Het testen van de effectiviteit van therapeutische antistoffen in deze transplantatieproeven is nodig, omdat meerdere werkingsmechanismen van deze antistoffen een rol spelen en in combinatie kunnen worden onderzocht, waardoor er een completer beeld verkregen wordt. Daarentegen zijn celweek experimenten vaak beperkt tot slechts één werkingsmechanisme. Ook kan in dierproeven de complexiteit van de kanker beter nagebootst worden, zoals o.a. de bloedvoorziening, en de omgeving (niche) waar de tumor zich ontwikkelt.

Titel studie: Evaluatie in subcutane xenograft modellen

DEC nummer: 2014.III.08.069

Ontwikkeling van antistoffen voor kankertherapie / evaluatie in subcutane xenograft-modellen

Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe en verbeterde antistoffen voor 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 bindingsplaatsen voor twee verschillende eiwitten, de zogenaamde bispecifieke antistoffen. Deze bi-specifieke antistoffen kunnen enerzijds specifiek aan kankercellen binden en anderzijds aan menselijke immuun cellen, waardoor een optimale interactie wordt bewerkstelligd tussen het immuunsysteem en de kankercel. Bi-specifieke antistoffen zijn al toegepast in klinische studies en hebben aangetoond zeer potent te zijn in het verminderen van de tumorgroei. In celkweek wordt uitvoerig bestudeerd hoe deze antistoffen de groei van kankercellen kunnen blokkeren.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om kennis over de effectiviteit en het werkingsmechanisme van bi-specifieke therapeutische antistoffen te verkrijgen ter voorbereiding en ondersteuning van klinische evaluatie in kanker patiënten.

Globale aanpak vraagstelling: Er zal onderzoek gedaan worden in tumor modellen, waarbij kankercellen afkomstig van mensen, onderhuids geïmplantéerd worden bij muizen (en in sommige gevallen ratten), waarna ze afhankelijk van de effectiviteit van de antistof therapie al dan niet uit kunnen groeien tot kleine tumoren. Voor sommige gegenereerde antistoffen is een intact immuunsysteem van belang. Hiervoor worden experimenten uitgevoerd met muizen waarbij immuun cellen van de muis zijn vervangen worden door menselijke immuun cellen. Vervolgens zullen menselijke kankercellen onderhuids

worden geïmplantéerd, waarna de behandeling met de menselijke antistoffen plaatsvindt. Als alternatief wordt er gebruik gemaakt van surrogaat muizen-antistoffen, waarbij muizen met een compleet immuunsysteem geïmplantéerd worden met muizen kankercellen. Op deze wijze kan een optimale interactie tussen antistof, immuunsysteem en kankercel bestudeerd worden. Het testen van de effectiviteit van therapeutische antistoffen in deze transplantatieproeven is nodig, omdat meerdere werkingsmechanismen van deze antistoffen een rol spelen en in combinatie kunnen worden onderzocht, waardoor er een completer beeld verkregen wordt. Daarentegen zijn celkweek experimenten vaak beperkt tot slechts één werkingsmechanisme. Ook kan in dierproeven de complexiteit van de kanker beter nagebootst worden, zoals o.a. de bloedvoorziening, en de omgeving (niche) waar de tumor zich ontwikkelt.

TU Twente

Titel studie: **Injectable plasters for osteoarthritis**

DEC nummer: 2014.III.09.083

Injecteerbare pleister voor osteoarthritis

Achtergrond: Slijtage aan het kraakbeen van een gewricht wordt artrose genoemd. Van alle gewrichtsaandoeningen is artrose de meest voorkomende en wordt gekarakteriseerd door schade aan en verlies van kraakbeen. In Nederland leiden ongeveer 1,1 miljoen mensen aan artrose, wat een behoorlijke impact heeft op de kwaliteit van 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. Eén van de huidige behandelmethoden bestaat uit het maken van microfracturen op de plek waar het gewrichtskraakbeen is weggesleten. Tijdens een kijkoperatie wordt geboord in het defect tot er beenmerg en bloed vrijkomt uit onderliggende bot, wat een bloedklont vormt. Cellen uit deze bloedklont gaan vervolgens nieuw, fibreus, kraakbeen vormen. Er zijn verschillende vormen van kraakbeen en helaas is het fibreuze kraakbeen niet het juiste kraakbeen voor de gewrichten en dat heeft negatieve gevolgen voor de revalidatie en de toekomst van deze patiënten. De oorzaak hiervan komt waarschijnlijk doordat de bloedklont de cellen signalen geeft om fibreus kraakbeen te maken. Om de juiste signalen krijgen aan de cellen te geven hebben wij een inverteerbare pleister (gel) ontwikkeld. Deze bestaat uit een gel met daarin factoren die de cellen signalen geven om het hyaliene kraakbeen, wat in gewrichten voorkomt, te maken. Deze wordt ingespoten na het aanbrengen van de microfracturen en moet ervoor zorgen dat de cellen in de bloedklont het hyaliene kraakbeen gaan vormen. Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het vergelijken van de bestaande techniek versus onze injecteerbare pleister in een proefdiermodel voor artrose. Onze hypothese is dat de injecteerbare pleister betere resultaten zal geven dan de bestaande methode, waarbij microfracturen worden gemaakt. Het toevoegen van cellen aan deze gel zou het kraakbeenherstel nog een extra impuls moeten

geven. Daarnaast gaan we proberen deze procedure via een kijkoperatie uit te voeren zodat het konijn sneller zal herstellen.

Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studie gaan we defecten maken in het kraakbeen van het kniegewricht bij konijnen. Deze defecten worden met de verschillende procedures behandeld (microfacturering alleen of gecombineerd met de gel en of cellen). Na afloop van de proef worden de konijnen gedood en worden de defecten geanalyseerd. In het laboratorium is al uitgebreid in vitro onderzoek gedaan naar het opvullen van defecten met de hydrogel. Helaas kunnen we in het laboratorium niet de werking van een heel gewricht nabootsen en hebben we een diermodel nodig om te analyseren hoe de pleister functioneert in een lichaam.

Titel studie: Transplantation of Islets of Langerhans; enhancement of scaffolds, induction of vascularization, and the search of alternative cell types

DEC nummer: 2014.III.12.118

Transplantatie van eilandjes van Langerhans; het vinden van het optimale dragermateriaal en de zoektocht naar een alternatief voor humane eilandjes van Langerhans

Achtergrond: Diabetes type I is een auto-immuunziekte met een grote sociale en economische impact. De ziekte kan vele complicaties tot gevolg hebben. Omdat de huidige behandeling, de insuline injecties, de ziekte niet geneest en voor sommige patiënten niet de juiste behandelmethode is, wordt er veel onderzoek gedaan naar een nieuwe behandelmethode. Een veelbelovende behande-

ling is de transplantatie van eilandjes van Langerhans (deze zijn verantwoordelijk voor de glucosehuishouding) in de lever van diabetes type 1-patiënten. Helaas is de efficiëntie van deze behandeling nog laag, waardoor veel patiënten weer insuline-injecties nodig hebben. Eén van de redenen daarvoor is de lever als transplantatieplek. Daarom wordt er veel onderzoek gedaan om de eilandjes elders in het lichaam te transplanteren. Om dit te kunnen doen moeten de eilandjes ingekapseld worden in een dragermateriaal. Dit onderzoek gaat over het vinden van het juiste omhulsel voor deze eilanden, om zo de overleving en dus de efficiëntie van de behandeling te verhogen. Daarnaast is er door donortekort veel vraag naar alternatieven voor humane eilanden. Deze studie zal de mogelijkheden onderzoeken om humane eilanden te vervangen met bijvoorbeeld stamcellen.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de huidige transplantatiemethode te verbeteren door gebruik van dragermaterialen. Daarnaast wordt onderzocht of ook andere cellen (bijvoorbeeld stamcellen) gebruikt kunnen worden om diabetes te genezen. De hypothese is dat door het gebruik van het dragermateriaal, er meer eilanden de transplantatie kunnen overleven en de patiënt voor langere tijd genezen is van diabetes.

Globale aanpak vraagstelling: Aangezien een transplantatiemethode onderzocht wordt, zijn studies in een levend zoogdier echt noodzakelijk. Bovendien is de glucose-huishouding een complex proces, waarbij meerdere celtypen betrokken zijn (de eilandjes van Langerhans bestaan al uit meerdere celtypes). Door het transplanteren van de verschillende dragermaterialen in zowel muis- als ratmodellen wordt een goed beeld verkregen van de efficiëntie van

de verschillende materialen. Om de hoeveelheid dieren te beperken, worden eerst reageerbuis- en celweekexperimenten uitgevoerd en zullen de studies in dieren stapsgewijs volgen (alleen na positieve resultaten).

3

Overzicht

Kamer I

* Uitleg codes voorwaarden, vragen en opmerkingen etc. gesteld door de DEC aan onderzoeker

1	Verantwoordelijk onderzoeker	27	Diersoort
2	Andere regelgeving	28	Herkomst dieren
3	Bevoegdheid/deskundigheid	29	Schatting omvang fokoverschot
4	Toezicht tijdens experiment	30	Bestemming overtollige dieren/hergebruik
		31	Onderbouwing aantal dieren
7	Doel onderzoek/vraagstelling		
8	Belang onderzoek	33	Inschatting ongerief
9	Wetenschappelijke beoordeling	34	Aangetast fenotype
10	Ethische afweging		
		37	(Tussentijdse) rapportage
14	Proefopzet	38	Huisvesting
15	Biotechnische handelingen	39	Lekensamenvattig
16	Anesthesie/analgesie	40	Samenwerking met derden
17	Euthanasie	41	Administratief probleem
18	Humane eindpunten	42	Opvragen pre-advies
19	Eerst pilot uitvoeren		
20	Looptijd		
21	Fasering		
22	Verlenging looptijd		
24	Vermindering		
25	Vervanging		
26	Verfijning		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2010								
2010.I.06.073	positief advies reeds gegeven	32		1 jul 14	8 jan 2014		1	
2011								
2011.I.03.030	positief voor wijziging	35	1 mei 12	1 jun 14	proefdierdeskundige		1	
2011.I.03.030	positief voor wijziging	35	1 mei 12	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2011.I.03.030	positief voor wijziging	35	1 mei 12	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2011.I.03.030	positief voor wijziging	35	1 mei 12	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2011.I.03.030	positief voor wijziging	35	1 mei 12	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2011.I.03.037	positief voor wijziging	33	1 mrt 13	1 jun 14	proefdierdeskundige			
2011.I.10.096	cont. positief advies met vr.	29	16 dec 11	1 nov 14	8 jan 2014	37	1	
2011.I.10.096	positief advies reeds gegeven	29	16 dec 11	1 nov 14	12 feb 2014		1	
2011.I.11.109	positief voor wijziging	37	1 dec 12	1 dec 14	proefdierdeskundige			1
2012								
2012.I.01.004	positief voor wijziging	33	1 feb 13	1 feb 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.01.010	positief voor wijziging	32	1 feb 14	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	1 jan 17	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.030	aanhouden cont. pos. adv.	37	1 apr 15		9 apr 2014	8		1
2012.I.03.030	continuering positief advies	37	1 apr 15	1 apr 15	7 mei 2014			1
2012.I.03.030	positief voor wijziging	37	1 apr 15	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.031	aanhouden cont. pos. adv.	37	1 apr 15		9 apr 2014	8, 41		1
2012.I.03.031	continuering positief advies	37	1 apr 15	1 mei 15	7 mei 2014			1
2012.I.03.031	positief voor wijziging	37	1 apr 15	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.032	continuering positief advies	29	22 jun 12	1 apr 15	9 apr 2014			1
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	1 apr 14	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	1 apr 14	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.039	positief voor wijziging	32	15 mrt 13	1 apr 16	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.I.03.041	positief voor wijziging	29	nb	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.041	positief voor wijziging	29	nb	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.041	positief voor wijziging	29	nb	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.049	positief voor wijziging	32	1 mei 13	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.051	positief voor wijziging	32	1 mei 13	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.051	positief voor wijziging	32	1 mei 13	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec 15	1 mei 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.067	positief voor wijziging	32	1 mei 13	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.05.067	positief voor wijziging	32	1 mei 13	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.05.068	positief voor wijziging	32	nb	1 jun 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.068	positief voor wijziging	32	nb	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.068	positief voor wijziging	32	nb	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep 14	1 jun 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep 14	1 jun 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep 14	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep 14	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.075	positief voor wijziging	37	30 sep 14	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.06.083	positief voor wijziging	33	1 jul 13	1 feb 16	emailronde kamer I		1	
2012.I.08.088	positief voor wijziging	32	1 sep 13	1 dec 14	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.090	positief voor wijziging	32	30 apr 13	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.08.090	positief voor wijziging	32	30 apr 13	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug 13	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug 13	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug 13	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug 13	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug 13	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug 13	1 sep 15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep 13	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep 13	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep 13	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.103	positief voor wijziging	37	28 sep 17	1 dec 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.105	positief voor wijziging	37	31 aug 15	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.105	positief voor wijziging	37	31 aug 15	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.106	positief voor wijziging	32	1 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.106	positief voor wijziging	32	1 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.106	positief voor wijziging	32	1 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.111	positief voor wijziging	32	1 apr 14	1 dec 14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 dec 16	5 nov 2014		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 dec 16	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.116	positief advies C2 reeds geg.	31	15 nov 14	1 dec 14 voor C2	12 feb 2014	37	1	
2012.I.11.116	positief advies C1 met opm.	31	15 nov 14	1 mrt 16 voor C1	12 feb 2014	37	1	
2012.I.11.116	positief voor wijziging	31	15 nov 14	1 dec 14 voor C2, 1 mrt 16 voor C1	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.116	positief voor wijziging	31	15 nov 14	1 dec 14 voor C2, 1 mrt 16 voor C1	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.116	positief voor wijziging	31	15 nov 14	1 dec 14 voor C2, 1 mrt 16 voor C1	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.119	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 okt 13	1 jan 15	8 jan 2014	8	1	
2012.I.11.119	positief voor wijziging	32	31 okt 13	1 jan 15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.I.11.119	positief voor wijziging	32	31 okt 13	1 jul 15	8 okt 2014		1	
2012.I.12.120	positief voor wijziging	32	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.122	positief voor wijziging	32	31 mei 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.122	positief voor wijziging	32	31 mei 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.122	positief voor wijziging	32	31 mei 13	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.I.12.123	positief voor wijziging	32	1 mei 14	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.125	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.125	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.125	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.129	positief voor wijziging	32	6 jan 14	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.129	positief voor wijziging	32	6 jan 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.129	positief voor wijziging	32	6 jan 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.132	positief voor wijziging	33	1 sep 14	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.136	continuering positief advies	29	11 mrt 13	1 jan 16	8 jan 2014	37		1
2012.I.12.136	positief voor wijziging	29	11 mrt 13	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2012.I.12.136	continuering positief advies	29	11 mrt 13	1 jan 16	3 dec 2014			1
2013								
2013.I.01.001	cont. positief advies, met opm.	23	29 feb 16	1 feb 16	8 jan 2014	37		1
2013.I.01.001	cont. pos. adv. reeds gegeven	23	29 feb 16	1 feb 16	12 feb 2014			1
2013.I.01.002	cont. positief advies, met opm.	23	29 feb 16	1 feb 16	8 jan 2014	37	1	
2013.I.01.002	cont. pos. adv. reeds gegeven	23	29 feb 16	1 feb 16	12 feb 2014			1
2013.I.01.003	cont. positief advies, met opm.	23	29 feb 16	1 feb 16	8 jan 2014	37	1	
2013.I.01.003	cont. pos. adv. reeds gegeven	23	29 feb 16	1 feb 16	12 feb 2014			1
2013.I.01.004	continuering positief advies	35	31 dec 13	1 feb 16	8 jan 2014			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec 13	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec 13	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec 13	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec 13	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.009	positief voor wijziging	32	3 jan 14	1 mrt 15	4 jun 2014		1	
2013.I.01.010	positief voor wijziging	32	1 feb 14	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.010	cont. positief advies, met opm.	32	1 feb 14	1 feb 15	12 feb 2014	41		1
2013.I.01.011	positief voor terugrapportage	32	1 feb 14	1 feb 15	12 feb 2014			1
2013.I.01.011	positief voor wijziging	32	1 feb 14	1 feb 15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.I.01.011	positief voor wijziging	32	1 feb 14	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.025	positief voor wijziging	32	1 mrt 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.02.025	positief voor wijziging	32	1 mrt 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.02.025	positief voor wijziging	32	1 mrt 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.02.025	positief voor wijziging	32	1 mrt 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.02.027	positief voor wijziging	32	28 feb 15	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.028	positief voor wijziging	31	31 mrt 13	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.028	positief voor wijziging	31	31 mrt 13	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.03.031	positief voor wijziging	32	1 apr 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.03.038	positief voor wijziging	32	1 mrt 14	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.04.040	positief advies	33	31 aug 14	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.04.042	positief voor wijziging	35	15 apr 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.042	positief voor wijziging	35	15 apr 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.046	positief voor wijziging	32	1 mei 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.04.047	positief voor wijziging	33	1 jun 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.05.051	positief voor wijziging	32	30 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.05.051	positief voor wijziging	32	30 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.05.051	positief voor wijziging	32	30 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.05.051	positief voor wijziging	32	30 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.05.052	positief voor wijziging	32	30 jun 14	1 dec 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.05.052	positief voor wijz. met opm.	32	30 jun 14	1 dec 16	10 sep 2014		1	
2013.I.05.052	positief voor wijz. reeds geg.	32	30 jun 14	1 dec 16	8 okt 2014		1	
2013.I.05.052	positief voor wijziging	32	30 jun 14	1 dec 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.07.059	positief voor wijziging	32	6 jul 14	1 jul 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.07.060	positief voor wijziging	32	7 mrt 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			
2013.I.07.060	positief voor wijziging	32	7 mrt 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.I.07.060	positief voor wijziging	32	7 mrt 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			
2013.I.07.060	positief voor wijziging	32	7 mrt 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			
2013.I.07.060	positief voor wijziging	32	7 mrt 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			
2013.I.07.061	continuering positief advies	32	31 dec 15	1 aug 16	13 aug 2014			
2013.I.07.061	positief voor wijziging	32	31 dec 15	1 aug 16	proefdierdeskundige			
2013.I.07.062	voorl. positief advies wijziging	32	1 mrt 14	1 sep 15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.07.062	positief voor wijziging	32	1 mrt 14	1 sep 15	12 feb 2014			1
2013.I.08.064	positief voor wijziging	32	26 aug 14	1 sep 15	8 okt 2013		1	
2013.I.08.064	positief voor wijziging	32	26 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.066	positief voor wijziging	3	30 sep 14	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.066	positief voor wijziging	3	30 sep 14	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.067	positief voor wijziging	30	15 aug 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.067	positief voor wijziging	30	15 aug 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.068	positief voor wijziging	32	1 sep 14	1 okt 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.09.070	positief voor wijziging	32	1 okt 14	1 okt 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.09.070	positief voor wijziging	32	1 okt 14	1 okt 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.09.073	positief voor wijziging		nb	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.09.073	positief voor wijziging		nb	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.09.073	positief voor wijziging		nb	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.09.073	positief voor wijziging		nb	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.09.073	positief voor wijziging		nb	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.10.075	positief voor terugrapportage	32	1 okt 15	1 nov 15	12 feb 2014			1
2013.I.10.076	positief voor wijziging	32	31 okt 14	1 januari 2016	13 aug 2014		1	
2013.I.10.076	positief voor wijziging	32	31 okt 14	1 januari 2016	per emailronde leden kamer I		1	
2013.I.10.077	positief voor wijziging	37	15 okt 18	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.10.077	positief voor wijziging	37	15 okt 18	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.10.078	positief voor wijziging	37	15 sep 18	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.10.079	positief voor wijziging	32	6 nov 14	1 dec 15	7 mei 2014		1	
2013.I.10.079	positief voor wijziging	32	6 nov 14	1 dec 15	7 mei 2014		1	
2013.I.10.079	aanh. wijz., ambt. mogelijk	32	6 nov 14	1 dec 15	3 dec 2014		1	
2013.I.10.079	positief voor wijziging	32	6 nov 14	1 dec 15	ambtelijk afgehandeld		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.I.11.080	positief voor wijziging	32	15 nov 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.082	positief voor wijziging	32	1 sep 14	1 januari 2016	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.083	positief advies reeds gegeven	33	31 aug 14	1 dec 15	8 jan 2014			
2013.I.11.083	positief voor wijziging	33	31 aug 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			
2013.I.11.084	positief advies met voorw.	12	13 okt 15	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld	39		1
2013.I.11.084	positief voor wijziging	12	13 okt 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.085	pos. adv. reeds geg., met opm.	35	31 dec 14	1 dec 15	8 jan 2014	37	1	
2013.I.11.085	positief voor wijziging	35	31 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.085	positief voor wijziging	35	31 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.085	positief voor wijziging	35	31 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.086	positief advies reeds gegeven	32	30 nov 15	1 dec 15	8 jan 2014			1
2013.I.11.086	positief voor wijziging	32	30 nov 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.086	positief voor wijziging	32	30 nov 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.087	positief advies	31	1 jan 15	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.11.087	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.087	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.088	pos. adv. reeds geg., met opm.	32	1 jan 15	1 dec 15	8 jan 2014	37		1
2013.I.11.088	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.089	positief voor wijziging	32	1 dec 14	1 januari 2016	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.089	int. voor wijz., ambt. mogelijk	32	1 dec 14	1 januari 2016	7 mei 2014	33		1
2013.I.11.089	positief voor wijziging	32	1 dec 14	1 januari 2016	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.11.089	positief voor wijziging	32	1 dec 14	1 januari 2016	proefdierdeskundige			1
2013.I.11.089	positief voor wijz., met voorw.	32	1 dec 14	1 januari 2016	emailronde kamer I			1
2013.I.11.090	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 jan 16		12 mrt 2014	41, 31	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.I.11.090	positief advies	32	1 jan 16	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.11.090	positief voor wijziging	32	1 jan 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.090	positief voor wijziging	32	1 jan 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.091	positief advies	37	1 jan 16	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.11.091	positief voor wijziging	37	1 jan 16	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.091	positief voor wijziging	37	1 jan 16	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.091	positief voor wijziging	37	1 jan 16	1 feb 16	7 mei 2014		1	
2013.I.11.092	positief advies reeds gegeven	32	12 dec 14	1 dec 15	8 jan 2014		1	
2013.I.11.092	positief voor wijziging	32	12 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.092	positief voor wijziging	32	12 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.092	positief voor wijziging	32	12 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.093	positief advies	35	6 jan 14	1 dec 15	8 jan 2013		1	
2014								
2014.I.01.001	positief advies met vr.	35	18 sep 14	1 feb 16	8 jan 2014	28	1	
2014.I.01.001	positief advies reeds gegeven	35	18 sep 14	1 feb 16	12 feb 2014		1	
2014.I.01.001	positief voor wijziging	35	18 sep 14	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.01.001	positief voor wijziging	35	18 sep 14	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.01.001	positief voor wijziging	35	18 sep 14	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.01.001	positief voor wijziging	35	18 sep 14	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.01.002	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 dec 15		8 jan 2014	42, 41, 16, 31, 33, 18, 4	1	
2014.I.01.002	positief advies met opm.	32	1 dec 15	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld	33, 15, 28	1	
2014.I.01.002	positief advies reeds gegeven	32	1 dec 15	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.01.002	positief voor wijziging	32	1 dec 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.01.003	positief advies	32	1 dec 16	1 feb 16	8 jan 2014		1	
2014.I.01.003	positief advies reeds gegeven	32	1 dec 16	1 feb 16	12 feb 2014		1	
2014.I.01.004	afgewezen	32	1 feb 16		8 jan 2014	42	1	
2014.I.01.004	positief advies	32	1 feb 16	1 mrt 16	12 feb 2014		1	
2014.I.01.004	positief voor wijziging	32	1 feb 16	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.01.005	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 aug 14		8 jan 2014	42, 26, 41	1	
2014.I.01.005	positief advies met opm.	32	31 aug 14	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.01.005	positief advies reeds gegeven	32	31 aug 14	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.01.006	afgewezen	32	2 feb 15		8 jan 2014	42	1	
2014.I.01.006	intentie positief, ambt. mogelijk	32	2 feb 15		12 feb 2014	7, 14, 39, 30	1	
2014.I.01.006	positief advies	32	2 feb 15	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.01.006	positief voor wijziging	32	2 feb 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.01.007	positief advies met opm.	32	1 jan 15	1 feb 16	8 jan 2014	41, 33, 4		1
2014.I.01.007	positief advies reeds gegeven	32	1 jan 15	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.01.008	positief advies	32	31 jan 16	1 feb 16	8 jan 2014			1
2014.I.01.008	positief voor wijziging	32	31 jan 16	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.02.009	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 mrt 15		12 feb 2014	14	1	
2014.I.02.009	positief advies	33	1 mrt 15	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.02.010	positief advies met opm.	32	15 feb 16	1 mrt 16	12 feb 2014	39	1	
2014.I.02.010	positief advies reeds gegeven	32	15 feb 16	1 mrt 16	12 mrt 2014			1
2014.I.02.010	positief voor wijziging	32	15 feb 16	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.02.011	positief advies met opm.	32	12 mrt 14	1 mrt 16	12 feb 2014	7, 14, 33, 18		1
2014.I.02.011	positief advies reeds gegeven	32	12 mrt 14	1 mrt 16	12 mrt 2014			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.02.012	positief advies met opm.	32	1 mrt 15	1 mrt 16	12 feb 2014	39, 28		1
2014.I.02.012	positief advies reeds gegeven	32	1 mrt 15	1 mrt 16	12 mrt 2014			1
2014.I.02.012	positief voor wijziging	32	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.02.012	positief voor wijziging	32	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.02.012	positief voor wijziging	32	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.02.012	positief voor wijziging	32	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.02.013	aanhouden	33	1 mrt 18		12 feb 2014	7, 10, 31, 14, 41, 20, 33	1	
2014.I.02.013	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 mrt 18		12 mrt 2014	31, 33	1	
2014.I.02.013	positief advies	33	1 mrt 18	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.02.013	int. pos. wijz., ambt. mogelijk	33	1 mrt 18	1 mei 16	9 apr 2014	31	1	
2014.I.02.013	positief voor wijziging	33	1 mrt 18	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.02.013	positief voor wijziging	33	1 mrt 18	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.02.013	positief voor wijziging	33	1 mrt 18	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.02.013	positief voor wijziging	33	1 mrt 18	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.02.013	positief voor wijziging	33	1 mrt 18	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.02.013	positief voor wijziging	33	1 mrt 18	1 mei 16	3 dec 2014		1	
2014.I.02.014	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 mrt 15		12 feb 2014	39, 14, 17, 33, 20	1	
2014.I.02.014	positief advies	32	1 mrt 15	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.02.014	positief voor wijziging	32	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.02.014	positief voor wijziging	32	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.02.015	positief advies met vr.	33	1 okt 14	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld	27	1	
2014.I.02.015	positief advies reeds gegeven	33	1 okt 14	1 mrt 16	12 mrt 2014		1	
2014.I.02.016	intentie positief, ambt. mogelijk	37	nb		12 feb 2014	7, 27, 14, 41, 33	1	
2014.I.02.016	positief advies	37	nb	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.02.017	aanhouden	33	1 aug 14		12 feb 2014	41, 7, 31, 27, 14	1	
2014.I.02.017	positief advies	33	1 aug 14	1 apr 16	12 mrt 2014		1	
2014.I.03.018	positief advies met opm.	32	31 mrt 14	1 apr 16	12 mrt 2014	16, 14, 33, 41	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.03.018	positief advies reeds gegeven	32	31 mrt 14	1 apr 16	7 mei 2014		1	
2014.I.03.019	positief advies met opm.	37	23 dec 14	1 apr 16	12 mrt 2014	7, 10, 16, 33, 15, 41	1	
2014.I.03.019	positief advies reeds gegeven	37	23 dec 14	1 apr 16	9 apr 2014		1	
2014.I.03.019	positief advies reeds gegeven	37	23 dec 14	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.03.020	positief advies met voorw.	32	1 apr 17	1 apr 17	12 mrt 2014	37		1
2014.I.03.021	positief advies met opm.	31	1 mrt 15	1 apr 16	12 mrt 2014	7, 29 ,41, 33, 20, 4		1
2014.I.03.021	continuering vraag met voorw.	31	1 mrt 15	1 apr 16	9 apr 2014	41, 37		1
2014.I.03.021	pos. adv. reeds geg., met opm.	31	1 mrt 15	1 apr 16	7 mei 2014	4		1
2014.I.03.021	positief voor wijziging	31	1 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.03.021	positief voor wijziging	31	1 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.03.021	positief voor wijziging	31	1 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.03.022	intentie positief, ambt. mogelijk	37	nb		12 mrt 2014	21, 15	1	
2014.I.03.022	positief advies	37	nb	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.03.023	positief advies	37	nb	1 apr 16	12 mrt 2014			1
2014.I.03.024	positief advies met opm.	32	23 feb 15	1 apr 16	12 mrt 2014	41, 37, 21, 15, 17	1	
2014.I.03.024	positief voor terugrapportage	32	23 feb 15	1 apr 16	8 okt 2014		1	
2014.I.03.024	positief advies reeds gegeven	32	23 feb 15	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.03.025	positief advies met opm.	12	12 nov 14	1 apr 16	12 mrt 2014	33, 15, 31		1
2014.I.03.025	continuering vraag	12	12 nov 14	1 apr 16	9 apr 2014	33		1
2014.I.03.025	positief advies reeds gegeven	12	12 nov 14	1 apr 16	7 mei 2014			1
2014.I.03.025	positief voor wijziging	12	12 nov 14	1 apr 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.04.026	positief adv. met vr. en voorw.	29	20 jun 14	1 mei 17	9 apr 2014	27, 15, 37	1	
2014.I.04.026	positief advies reeds gegeven	29	20 jun 14	1 mei 17	7 mei 2014		1	
2014.I.04.027	positief advies	29	18 apr 14	1 mei 16	9 apr 2014		1	
2014.I.04.028	positief advies	31	1 jan 16	1 mei 16	9 apr 2014			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.04.028	positief voor wijziging	31	1 jan 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.04.028	positief voor wijziging	31	1 jan 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.04.028	positief voor wijziging	31	1 jan 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.04.029	aanhouden, ambt. mogelijk	32	1 mei 15		9 apr 2014	8, 7, 17, 41, 1 31, 33		
2014.I.04.029	positief advies met opm.	32	1 mei 15	1 jun 16	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2014.I.04.029	positief voor terugrapportage	32	1 mei 15	1 jun 16	3 dec 2014		1	
2014.I.04.030	intentie positief, ambt. mogelijk	33	31 mrt 15		9 apr 2014	39, 14, 41, 1 31, 33, 27	1	
2014.I.04.030	positief advies	33	31 mrt 15	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.04.031	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 apr 16		9 apr 2014	39, 31, 15	1	
2014.I.04.031	positief advies	37	1 apr 16	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.05.032	positief advies met opm.	32	1 jun 16	1 jun 16	7 jun 2014	27, 18		1
2014.I.05.032	positief advies reeds gegeven	32	1 jun 16	1 jun 16	4 jun 2014	4		1
2014.I.05.032	positief advies reeds gegeven	32	1 jun 16	1 jun 16	25 jun 2014			1
2014.I.05.033	positief advies met vr. en opm.	32	1 mei 16	1 jun 16	7 mei 2014	9, 18, 37		1
2014.I.05.033	positief advies reeds gegeven	32	1 mei 16	1 jun 16	4 jun 2014			1
2014.I.05.034	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 dec 17		7 mei 2014	7, 14, 10, 1 31, 37	1	
2014.I.05.034	cont. intentie pos., ambt. mog.	37	31 dec 17		4 jun 2014		1	
2014.I.05.034	positief advies	37	31 dec 17	1 jul 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.035	intentie positief, ambt. mogelijk	35	1 jul 15		4 jun 2014	10, 33, 31, 1 15	1	
2014.I.06.035	positief advies	35	1 jul 15	1 jul 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.036	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 jun 16		4 jun 2014	14, 9, 7, 18	1	
2014.I.06.036	positief advies	32	1 jun 16	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.037	positief advies met vr. en opm.	35	1 jul 14	1 jul 14	4 jun 2014	9, 33	1	
2014.I.06.037	positief advies reeds gegeven	35	1 jul 14	1 jul 14	25 jun 2014		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.06.038	intentie positief, ambt. mogelijk	32	30 sep 14		4 jun 2014	14, 31	1	
2014.I.06.038	positief advies	32	30 sep 14	1 jul 14	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.038	positief voor wijziging	32	30 sep 14	1 jul 14	proefdierdeskundige		1	
2014.I.06.039	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 dec 15		25 jun 2014	7, 14, 31, 10, 30, 41	1	
2014.I.06.039	positief advies	37	31 dec 15	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.040	aanhouden, ambt. mogelijk	32	1 aug 16		25 jun 2014	7, 27, 33	1	
2014.I.06.040	positief advies	32	1 aug 16	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.041	positief advies met vr. en opm.	32	30 aug 15	1 jul 16	25 jun 2014	41, 9, 33		1
2014.I.06.041	positief advies reeds gegeven	32	30 aug 15	1 jul 16	13 aug 2014			1
2014.I.06.042	positief advies met opm.	32	1 jul 16	1 jul 16	25 jun 2014	41		1
2014.I.06.042	positief voor wijziging	32	1 jul 16	1 jul 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.06.042	positief advies reeds gegeven	32	1 jul 16	1 jul 16	13 aug 2014			1
2014.I.06.042	positief voor wijziging	32	1 jul 16	1 jul 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.06.042	positief voor wijziging	32	1 jul 16	1 jul 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.06.043	positief advies	32	1 aug 15	1 jul 16	25 jun 2014			1
2014.I.06.043	positief voor wijziging	32	1 aug 15	1 jul 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.06.044	aanhouden, ambt. mogelijk	32	1 jul 17		25 jun 2014	25, 39, 41, 16, 33	1	
2014.I.06.044	positief advies	32	1 jul 17	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.045	intentie positief, ambt. mogelijk	fok	nb		25 jun 2014	41, 30, 18, 14	1	
2014.I.06.045	positief advies	fok	nb	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.046	intentie positief, ambt. mogelijk	33	31 mei 15		25 jun 2014	31, 41	1	
2014.I.06.046	positief advies	33	31 mei 15	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.06.047	intentie positief, ambt. mogelijk	35	31 aug 14		25 jun 2014	14	1	
2014.I.06.047	ingetrokken	35	31 aug 14		25 jun 2014		1	
2014.I.08.048	positief advies met opm.	33	1 jun 16	1 sep 16	13 aug 2014	39, 15, 33	1	
2014.I.08.049	aanhouden	33	1 sep 17		13 aug 2014	10, 8, 9, 31, 33, 18		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.08.049	continuering aanhouden	33	1 sep 17		10 sep 2014	7, 8, 27, 14	1	
2014.I.08.049	continuering aanhouden	33	1 sep 17		5 nov 2014	7, 9, 14	1	
2014.I.08.049	positief advies met voorw.	33	1 sep 17	1 jan 17	3 dec 2014	21, 37	1	
2014.I.08.050	positief advies met vr.	33	1 sep 15	1 sep 16	13 aug 2014	9		1
2014.I.08.050	positief advies reeds gegeven	33	1 sep 15	1 sep 16	10 sep 2014			1
2014.I.08.051	positief advies	32	1 aug 16	1 sep 16	13 aug 2014		1	
2014.I.08.051	positief voor wijziging	32	1 aug 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.08.052	positief advies	32	15 sep 15	1 sep 16	13 aug 2014		1	
2014.I.08.053	positief advies	37	1 aug 18	1 sep 16	13 aug 2014		1	
2014.I.08.054	intentie positief, ambt. mogelijk	35	31 aug 19		13 aug 2014	31	1	
2014.I.08.054	positief advies	35	31 aug 19	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.08.055	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 jul 19		13 aug 2014	31		1
2014.I.08.055	positief advies	32	31 jul 19	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.08.056	positief advies	32	1 okt 16	1 sep 16	13 aug 2014		1	
2014.I.08.057	positief advies met opm.	37	31 aug 16	1 sep 16	13 aug 2014	30, 9, 10	1	
2014.I.08.057	positief advies reeds gegeven	37	31 aug 16	1 sep 16	10 sep 2014		1	
2014.I.08.058	positief advies met opm.	37	31 dec 16	1 sep 16	13 aug 2014	39, 31	1	
2014.I.08.058	positief advies reeds gegeven	37	31 dec 16	1 sep 16	10 sep 2014		1	
2014.I.08.059	positief advies met vr.	32	1 sep 16	1 sep 16	13 aug 2014	9		1
2014.I.08.059	positief advies reeds gegeven	32	1 sep 16	1 sep 16	8 okt 2014			1
2014.I.08.059	positief voor wijziging	32	1 sep 16	1 sep 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.08.059	positief voor wijziging	32	1 sep 16	1 sep 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.08.060	positief advies met opm.	32	1 sep 15	1 sep 16	13 aug 2014	18		1
2014.I.08.060	positief advies reeds gegeven	32	1 sep 15	1 sep 16	10 sep 2014			1
2014.I.08.061	intentie positief, ambt. mogelijk	35	1 jan 15		13 aug 2014	31, 41		1
2014.I.08.061	positief advies	35	1 jan 15	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.08.061	positief voor wijziging	35	1 jan 15	1 okt 16	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.08.062	intentie positief, ambt. mogelijk	35	1 jan 15		13 aug 2014	31		1
2014.I.08.062	positief advies	35	1 jan 15	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.08.062	positief voor wijziging	35	1 jan 15	1 okt 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.08.063	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 okt 15		13 aug 2014	31, 33, 17, 41		1
2014.I.08.063	positief advies met opm.	32	1 okt 15	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.09.064	positief advies	32	1 sep 16	1 okt 16	10 sep 2014			1
2014.I.09.065	intentie positief, ambt. mogelijk	35	30 sep 16		10 sep 2014	41, 7, 26, 31	1	
2014.I.09.065	positief advies	35	30 sep 16	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.09.065	positief voor wijziging	35	30 sep 16	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.09.066	aanhouden	37	31 okt 16		10 sep 2014	31, 19, 7, 14, 24, 21	1	
2014.I.09.066	aanhouden, ambt. mogelijk	37	31 okt 16		8 okt 2014	14		1
2014.I.09.066	positief advies	37	31 okt 16	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.09.067	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 dec 16		10 sep 2014	8, 39, 14, 31, 24, 33		1
2014.I.09.067	positief advies	32	31 dec 16	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.09.067	positief voor wijziging	32	31 dec 16	1 okt 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.09.068	positief advies met voorw.	35	30 sep 15	1 okt 16	10 sep 2014	41		1
2014.I.09.069	positief advies met vr.	32	31 okt 14	1 okt 16	10 sep 2014	14, 31, 17		1
2014.I.09.069	continuering vraag	32	31 okt 14	1 okt 16	5 nov 2014			1
2014.I.09.069	positief advies reeds gegeven	32	31 okt 14	1 okt 16	3 dec 2014			1
2014.I.09.070	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 okt 15		10 sep 2014	41, 7, 14, 31, 15, 39	1	
2014.I.09.070	positief advies	32	1 okt 15	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.09.071	aanhouden	32	1 dec 16		10 sep 2014	7, 8, 14, 27, 31		1
2014.I.09.071	positief advies met vr. en opm.	32	1 dec 16	1 nov 16	8 okt 2014	39, 15		1
2014.I.09.071	positief advies reeds gegeven	32	1 dec 16	1 nov 16	5 nov 2014			1
2014.I.09.072	positief advies met vr. en opm.	32	1 nov 16	1 okt 16	10 sep 2014	41, 10, 39, 14, 17	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.09.072	positief advies reeds gegeven	32	1 nov 16	1 okt 16	8 okt 2014		1	
2014.I.09.073	positief adv. met voorw. en opm.	29	1 dec 17	1 okt 17	10 sep 2014	37, 14, 17		1
2014.I.09.073	positief advies reeds gegeven	29	1 dec 17	1 okt 17	8 okt 2014			1
2014.I.10.074	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 okt 19		8 okt 2014	14, 27, 33	1	
2014.I.10.074	positief advies	37	31 okt 19	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.10.075	intentie positief, ambt. mogelijk	35	31 dec 17		8 okt 2014	39, 27, 31		1
2014.I.10.075	positief advies met opm.	35	31 dec 17	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld	39, 41		1
2014.I.10.075	positief advies reeds gegeven	35	31 dec 17	1 nov 16	5 nov 2014			1
2014.I.10.076	positief advies met vr.	32	30 nov 16	1 nov 16	8 okt 2014	9, 7, 14, 37	1	
2014.I.10.076	positief advies reeds gegeven	32	30 nov 16	1 nov 16	5 nov 2014		1	
2014.I.10.076	positief voor wijziging	32	30 nov 16	1 nov 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.10.077	positief advies met opm. en vr.	37	1 okt 16	1 nov 16	8 okt 2014	14, 9		1
2014.I.10.078	aanhouden	32	1 jan 18		8 okt 2014	9, 7, 39, 31	1	
2014.I.10.078	positief advies met vr.	32	1 jan 18	1 dec 14	5 nov 2014	38	1	
2014.I.10.078	positief advies reeds gegeven	32	1 jan 18	1 dec 14	3 dec 2014		1	
2014.I.10.079	positief advies met vr. en opm.	37	30 sep 19	1 nov 16	8 okt 2014	9,10		1
2014.I.10.079	positief advies reeds gegeven	37	30 sep 19	1 nov 16	5 nov 2014			1
2014.I.10.079	positief voor wijziging	37	30 sep 19	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.I.10.080	aanhouden, ambt. mogelijk	33	31 aug 18		8 okt 2014	9, 7, 39, 14, 15		
2014.I.10.080	positief advies	33	31 aug 18	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.10.081	positief adv. met opm. en voorw.	31	1 nov 16	1 nov 16	8 okt 2014	8, 26, 14, 15, 4	1	
2014.I.10.081	positief advies reeds gegeven	31	1 nov 16	1 nov 16	3 dec 2014		1	
2014.I.10.082	positief advies met opm.	31	1 jan 16	1 nov 16	8 okt 2014	39, 15, 33, 18	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.10.082	positief advies reeds gegeven	31	1 jan 16	1 nov 16	5 nov 2014		1	
2014.I.10.082	positief voor wijziging	31	1 jan 16	1 nov 16	proefdierdeskundige		1	
2014.I.11.083	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 jun 18		5 nov 2014	14, 9, 15		1
2014.I.11.084	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 dec 17		5 nov 2014	14, 7, 33		1
2014.I.11.084	positief advies	32	1 dec 17	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.11.085	aanhouden	37	1 jun 15		5 nov 2014	14, 7, 31	1	
2014.I.11.085	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 jun 15		3 dec 2014	7, 19	1	
2014.I.11.085	positief advies	37	1 jun 15	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.I.11.086	aanhouden	32	1 sep 18		5 nov 2014	7, 14, 9, 10, 15		
2014.I.11.086	positief advies met opm.	32	1 sep 18	1 jan 17	3 dec 2014	14, 41	1	
2014.I.11.087	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 dec 15		5 nov 2014	7, 28		1
2014.I.11.087	positief advies met advies	12	1 dec 15	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.11.088	aanhouden	32	1 jan 18		5 nov 2014	14, 10, 9, 33, 18		1
2014.I.11.088	positief advies met vr.	32	1 jan 18	1 jan 17	3 dec 2014	14		1
2014.I.11.088	positief voor wijziging	32	1 jan 18	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2014.I.11.089	positief adv. met opm. en voorw.	29	1 jul 15	1 feb 16	5 nov 2014	37,15		1
2014.I.11.089	positief advies reeds gegeven	29	1 jul 15	1 feb 16	3 dec 2014			1
2014.I.12.090	aanhouden, ambt. mogelijk	33	1 okt 15		3 dec 2014	7, 39, 3, 31, 8		1
2014.I.12.090	positief advies	33	1 okt 15	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.12.091	positief advies met opm.	29	1 apr 15	1 jan 17	3 dec 2014	8, 7	1	
2014.I.12.092	positief advies met opm.	32	15 dec 15	1 jan 17	3 dec 2014	14		1
2014.I.12.093	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 apr 18		3 dec 2014	7, 14, 8, 21	1	
2014.I.12.093	positief advies met opm.	32	1 apr 18	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	41	1	
2014.I.12.094	positief adv. met vr. en opm.	32	31 dec 15	1 jan 17	3 dec 2014	14, 41		1
2014.I.12.095	afgewezen	34	31 okt 18		3 dec 2014	7, 8	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.I.12.096	positief advies met vr.	30	5 jan 18	1 jan 18	3 dec 2014	7, 14, 37	1	
2014.I.12.097	positief adv. met opm. en voorw.	32	2 feb 18	1 jan 17	3 dec 2014	21, 37, 14, 41, 33, 16, 15, 31, 18, 4	1	
2014.I.12.098	positief advies		nb	1 jan 17	3 dec 2014			1
2014.I.12.099	positief advies	37	1 jan 17	1 jan 17	3 dec 2014			1
2014.I.12.099	positief voor wijziging	37	1 jan 17	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2014.I.12.100	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 jan 17		3 dec 2014	7, 14, 41, 31, 15	1	
2014.I.12.100	positief advies met voorw.	32	1 jan 17	1 jan 17	3 dec 2014	37	1	
2014.I.12.101	positief advies met opm.	37	1 dec 16	1 jan 17	3 dec 2014	15, 31	1	
2014.I.12.102	positief advies	32	1 dec 16	1 jan 17	3 dec 2014			1
2014.I.12.103	positief advies met opm. en vr.	32	1 feb 20	1 jan 17	3 dec 2014	8, 15, 31	1	
2014.I.12.104	positief advies met vr. en opm.	32	1 jan 18	1 jan 17	3 dec 2014	38, 14, 33		1
2014.I.12.105	positief advies met vr.	32	22 mei 15	1 jan 17	3 dec 2014	7, 38		1
2014.I.12.106	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 feb 16		3 dec 2014	7, 41		1
2014.I.12.106	positief advies	32	1 feb 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.I.12.107	pos. adv. met opm., vr., voorw.	37	1 feb 18	1 jan 18	15 dec 2014	14, 15, 10, 39, 31, 33		1

Kamer II

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw vervolg
2009							
2009.II.09.082	positief voor wijziging	13	1 mrt 10	1 sep 11	18 aug 2010		1
2011							
2011.II.01.013	positief voor wijziging	31	1 feb 12	1 feb 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 okt 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 okt 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 okt 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 okt 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 okt 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 dec 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 dec 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 dec 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr 12	1 dec 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.03.056	pos. adv. voor wijz. met voorw.	29	1 apr 12	1 dec 15	12 nov 2014		1
2011.II.03.058	positief voor wijziging	31	1 apr 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei 12	1 nov 14	proefdierdeskundige		1
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei 12	1 nov 14	19 feb 2014		1
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei 12	1 nov 14	proefdierdeskundige		1
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei 12	1 nov 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.079	positief voor wijziging	33	1 sep 16	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.081	afgewezen voor wijziging	31	2 mei 12	2 mei 13	14 mei 2014		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 15	proefdierdeskundige		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun 12	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	1 apr 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	1 apr 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	1 apr 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	1 apr 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	1 apr 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.11.173	voorl. continuering pos. advies	29	1 dec 14	1 dec 14	ambtelijk afgehandeld		1	
2011.II.11.173	continuering pos. advies	29	1 dec 14	1 dec 14	19 mrt 2014		1	
2011.II.11.173	positief voor wijziging	29	1 dec 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.12.181	positief voor wijziging	36	1 nov 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.12.181	positief voor wijziging	36	1 nov 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012								
2012.II.01.014	positief voor wijziging	33	1 jan 13	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.01.014	positief voor wijziging	33	1 jan 13	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	1 mrt 15	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	1 mrt 15	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	1 mrt 15	1 mrt 15	20 aug 2014		1	
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.031	positief voor wijziging	31	15 feb 13	1 mrt 15	19 feb 2014		1	
2012.II.02.031	aanh. wijz., ambt. mogelijk	31	15 feb 13	1 mrt 16	8 dec 2014		1	
2012.II.02.031	positief voor wijziging	31	15 feb 13	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.II.02.031	afgewezen voor wijziging	31	15 feb 13	1 mrt 16	8 dec 2014	41	1	
2012.II.02.033	positief voor wijziging	37	1 mrt 13	1 sep 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.049	positief voor wijziging	33	1 aprl 2013	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	1 apr 12	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	1 apr 12	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	1 apr 12	1 jul 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.054	positief voor wijziging	31	31 dec 13	1 mei 13	1 okt 2016		1	
2012.II.04.059	positief voor terugrapportage	31	22 apr 13	1 mei 13	12 nov 2014		1	
2012.II.05.074	positief voor wijziging	31	31 dec 13	1 jun 14	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.II.05.074	positief voor wijziging	31	31 dec 13	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.05.074	positief voor wijziging	31	31 dec 13	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.06.086	positief voor wijziging	8	1 aug 13	1 aug 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.06.089	positief voor terugrapportage	36	1 jul 12	1 jul 13	15 jan 2014			1
2012.II.07.097	positief voor wijziging	30	1 jul 13	1 aug 14	proefdierdeskundige			1
2012.II.07.100	positief voor wijziging	37	26 jun 15	1 aug 14	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.106	positief voor wijziging	33	1 sep 13	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.114	positief voor wijziging	37	1 okt 16	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.121	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 sep 14	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.121	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 sep 14	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 jan 17	8 dec 2014			1
2012.II.08.124	positief voor wijziging	31	1 septmeber 2015	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.124	positief voor wijziging	31	1 septmeber 2015	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.125	positief voor wijziging	12	1 sep 15	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.134	positief voor terugrapportage	36	30 sep 13	1 apr 14	15 jan 2014		1	
2012.II.09.136	positief voor wijziging	8	1 nov 13	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.136	positief voor wijziging	8	1 nov 13	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.136	positief voor wijziging	8	1 nov 13	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.136	positief voor wijziging	8	1 nov 13	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.144	positief voor wijziging	12	1 dec 14	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	voorl. positief advies wijziging	4	1 jun 13	1 okt 13	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	1 jun 13	1 okt 13	19 mrt 2014		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	1 jun 13	1 okt 13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	1 jun 13	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	1 jun 13	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.146	positief voor wijziging	31	1 okt 13	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.146	positief voor wijziging	31	1 okt 13	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.152	continuerend positief advies	13	17 okt 15	1 nov 15	12 nov 2014		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.155	positief voor wijziging	37	20 nov 13	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.156	positief voor wijziging	12	1 nov 13	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.162	positief voor wijziging	8	1 dec 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.11.163	positief voor terugrapportage	31	1 jan 14	1 dec 13	12 nov 2014			1
2012.II.11.166	positief voor wijziging	29	31 mei 13	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.171	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 dec 14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.171	positief voor wijziging	37	1 dec 13	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.172	positief voor wijziging	33	18 dec 13	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2012.II.12.176	positief voor wijziging	37	1 jun 13	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2012.II.12.185	positief voor wijziging	19	31 dec 13	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.185	positief voor wijziging	19	31 dec 13	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013								
2013.II.01.006	positief voor wijziging	12	2 jul 14	1 aug 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.006	positief voor wijziging	12	2 jul 14	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.008	positief voor wijziging	33	1 jan 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.02.012	positief voor terugrapportage	33	1 mrt 14	1 jun 15	11 jun 2014		1	
2013.II.02.019	positief voor wijziging	31	1 okt 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.019	positief advies wijz. met voorw.	31	1 okt 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige	37	1	
2013.II.02.019	positief advies wijz. met voorw.	31	1 okt 14	1 mrt 15	proefdierdeskundige	41	1	
2013.II.02.020	positief voor wijziging	31	1 dec 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.023	positief voor wijziging	33	1 mrt 14	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.024	positief voor wijziging		nb	1 mrt 15	proefdierdeskundige			
2013.II.03.025	continuering positief advies	36	1 feb 16	1 jun 16	14 mei 2014			1
2013.II.03.025	positief voor wijziging	36	1 feb 16	1 jun 16	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.II.03.028	positief voor terugrapportage	31	1 apr 14	1 apr 15	12 nov 2014			1
2013.II.03.029	positief voor wijziging	31	1 mei 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	continuering positief advies	8	1 apr 16	1 mei 16	14 mei 2014			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	1 apr 16	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.036	positief voor wijziging	30	1 apr 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.036	positief voor wijziging	30	1 apr 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.036	positief voor wijziging	30	1 apr 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.037	positief voor wijziging	30	1 apr 14	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.038	positief voor wijziging	31	1 nov 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.038	positief voor wijziging	31	1 nov 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.038	positief voor wijziging	31	1 nov 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.038	positief voor wijziging	31	1 nov 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.038	positief voor wijziging	31	1 nov 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.038	positief voor wijziging	31	1 nov 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.039	positief voor wijziging	31	1 apr 14	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.039	positief voor wijziging	31	1 apr 14	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.040	positief voor wijziging	12	1 jan 15	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.043	positief voor wijziging	33	1 apr 14	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.04.044	positief voor wijziging	33	15 apr 17	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.04.050	positief voor wijziging	31	2 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.04.050	positief voor wijziging	31	2 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.05.053	positief voor wijziging	37	9 apr 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.055	positief voor terugrapportage	31	1 jul 14	1 jun 15	12 nov 2014			1
2013.II.05.056	positief voor wijziging	31	3 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.II.05.056	positief voor wijziging	31	3 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.057	positief voor wijziging	33	1 jun 17	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.057	positief voor wijziging	33	1 jun 17	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.057	positief voor wijziging	33	1 jun 17	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.061	positief voor wijziging	33	1 jun 14	1 jul 15	emailronde kamer II		1	
2013.II.06.062	positief voor wijziging	36	1 jul 14	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.064	positief voor wijziging	12	21 okt 13	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.065	positief voor wijziging	31	1 jul 14	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.065	positief voor terugrapportage	31	1 jul 14	1 jul 15	12 nov 2014		1	
2013.II.06.066	positief voor terugrapportage	31	1 jul 14	1 jul 15	12 nov 2014		1	
2013.II.06.067	int. voor wijz., ambt. mogelijk	31	1 jun 14	1 jul 15	19 feb 2014	14, 41	1	
2013.II.06.067	positief voor wijziging	31	1 jun 14	1 jul 15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.06.067	positief voor wijziging	31	1 jun 14	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.067	positief voor wijziging	31	1 jun 14	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.067	int. voor wijz., ambt. mogelijk	31	1 jun 14	1 jul 16	8 dec 2014		1	
2013.II.06.067	positief advies wijz. met opm.	31	1 jun 14	1 jul 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.06.067	pos. adv. voor wijz. reeds geg.	31	1 jun 14	1 jul 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.06.068	positief voor wijziging	31	1 jul 14	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.070	positief voor wijziging	33	2 jun 14	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.070	positief voor wijziging	33	2 jun 14	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.070	positief voor terugrapportage	33	2 jun 14	1 aug 15	14 mei 2014		1	
2013.II.07.078	positief voor wijziging	33	1 sep 15	1 aug 15	16 apr 2014		1	
2013.II.07.079	nog geen advies voor wijziging	31	1 jul 14	1 aug 15	8 dec 2014	14, 31	1	
2013.II.07.079	positief voor wijziging	31	1 jul 14	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.080	positief voor wijziging	31	1 apr 15	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.080	positief voor wijziging	31	1 apr 15	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.080	positief voor wijziging	31	1 apr 15	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.080	positief voor wijziging	31	1 apr 15	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.081	positief voor wijziging	31	1 jul 16	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.083	positief advies reeds gegeven	36	onbekend	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.II.07.083	positief voor wijziging	36	onbekend	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.083	positief voor wijziging	36	onbekend	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.084	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 sep 15	19 feb 2014		1	
2013.II.07.084	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.084	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.085	positief advies reeds gegeven	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.085	positief advies reeds gegeven	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.085	positief advies reeds gegeven	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.085	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.085	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.085	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.086	positief voor wijziging	31	1 sep 15	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.07.086	positief voor wijziging	31	1 sep 15	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.087	positief voor wijziging	36	31 aug 17	1 sep 16	20 aug 2014			1
2013.II.08.088	positief voor wijziging	31	1 sep 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.088	positief voor wijziging	31	1 sep 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.088	positief voor wijziging	31	1 sep 14	1 okt 15	19 mrt 2014		1	
2013.II.08.088	positief voor wijziging	31	1 sep 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.091	positief voor wijziging	12	1 apr 14	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.092	continuering positief advies	37	15 sep 16	1 okt 16	15 okt 2014		1	
2013.II.08.094	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.08.094	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.08.095	aanh. terugrap., ambt. mogelijk	29	4 sep 16	1 jun 16	17 sep 2014	41, 8		1
2013.II.08.095	continuering positief advies	29	4 sep 16	1 jun 16	1 okt 2016			1
2013.II.08.097	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.098	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.09.100	positief voor wijziging	3	20 sep 15	1 nov 17	20 aug 2014			1
2013.II.09.105	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.09.105	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.09.105	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.II.09.105	positief voor C2	37	1 sep 15	1 jun 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.09.105	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 jun 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.09.105	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 jun 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.09.106	positief voor wijziging	37	1 nov 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.09.106	positief voor wijziging	37	1 nov 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.10.107	positief voor wijziging	36	8 nov 14	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.10.108	positief voor wijziging	37	1 sep 14	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.10.108	positief voor wijziging	37	1 sep 14	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.10.108	positief voor wijziging	37	1 sep 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.10.108	positief voor wijziging	37	1 sep 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.10.109	positief advies	13	2 dec 13	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.10.110	continuering vraag	33	1 aug 15	1 nov 15	19 feb 2014	27		1
2013.II.10.110	positief advies reeds gegeven	33	1 aug 15	1 nov 15	16 apr 2014			1
2013.II.10.110	positief voor wijziging	33	1 aug 15	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.10.110	positief voor wijziging	33	1 aug 15	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.10.111	positief voor wijziging	37	1 nov 13	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.10.112	positief voor wijziging	3	30 nov 15	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.10.112	positief voor wijziging	3	30 nov 15	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.10.112	positief voor wijziging	3	30 nov 15	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.11.113	positief voor wijziging	3	1 nov 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.11.114	positief voor wijziging	33	1 dec 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.11.114	afgewezen voor wijz., met opm.	33	1 dec 15	1 dec 15	2 jul 2014	41, 7		1
2013.II.11.114	cont. afgewezen voor wijziging	33	1 dec 15	1 dec 15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.11.114	pos. adv. reeds geg., met opm.	33	1 dec 15	1 dec 15	20 aug 2014	41		1
2013.II.11.115	positief voor wijziging	31	1 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.11.115	positief voor wijziging	31	1 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.II.12.119	positief advies reeds gegeven	31	2 feb 15	1 jan 16	15 jan 2014			1
2013.II.12.119	positief voor wijziging	31	2 feb 15	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.12.119	positief voor wijziging	31	2 feb 15	1 jan 16	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.II.12.120	positief advies reeds gegeven	31	1 aug 16	1 jan 16	15 jan 2014			1
2013.II.12.120	positief voor wijziging	31	1 aug 16	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.12.121	positief voor wijziging	12	17 nov 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.121	positief voor wijziging	12	17 nov 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.121	positief voor wijziging	12	17 nov 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.121	positief voor wijziging	12	17 nov 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.121	positief voor wijziging	12	17 nov 14	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.122	positief advies reeds gegeven	33	7 feb 14	1 jan 16	15 jan 2014		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.124	positief voor wijziging	31	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.II.12.125	positief voor wijziging	29	1 oktober 2018	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2013.II.12.126	positief advies reeds gegeven	31	1 nov 14	1 jan 16	15 jan 2014		1	
2013.II.12.127	positief advies reeds gegeven	29	31 mei 14	1 jan 17	19 feb 2014			1
2013.II.12.127	positief voor wijziging	29	31 mei 14	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2013.II.12.127	continuering positief advies	29	31 mei 14	1 jan 17	12 nov 2014			1
2014								
2014.II.01.001	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 sep 15		15 jan 2014	7, 31, 14, 28, 15		1
2014.II.01.001	positief advies	37	1 sep 15		ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.01.001	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.01.001	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 mrt 16	11 jun 2014			1
2014.II.01.001	voorl. positief advies wijziging	37	1 sep 15	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.01.001	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 mrt 16	20 aug 2014			1
2014.II.01.002	aanhouden	31	1 jan 15		15 jan 2014	7, 14, 31, 16, 33	1	
2014.II.01.002	positief advies	31	1 jan 15	1 mrt 16	19 feb 2014		1	
2014.II.01.002	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.01.002	positief voor wijziging	31	1 jan 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.01.003	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 jan 15		15 jan 2014	33, 39, 31, 27		1
2014.II.01.003	positief advies	37	1 jan 15		ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.01.003	positief voor wijziging	37	1 jan 15		proefdierdeskundige			1
2014.II.01.003	positief voor wijziging	37	1 jan 15		proefdierdeskundige			1
2014.II.01.003	positief voor wijziging	37	1 jan 15		proefdierdeskundige			1
2014.II.01.004	positief advies met vr. en opm.	31	1 dec 14	1 feb 16	15 jan 2014	27 ,33, 14	1	
2014.II.01.004	positief advies reeds gege- ven	31	1 dec 14	1 feb 16	12 feb 2014		1	
2014.II.01.004	positief advies reeds gege- ven	31	1 dec 14	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.01.004	aanhouden voor wijziging	31	1 dec 14	1 feb 16	11 jun 2014	33	1	
2014.II.01.004	pos. adv. voor wijz., met voorw.	31	1 dec 14	1 feb 16	2 jul 2014	15	1	
2014.II.01.005	aanhouden	36	19 mei 14		15 jan 2014	40, 14, 31	1	
2014.II.01.005	positief advies met opm.	36	19 mei 14	1 mrt 16	19 feb 2014	41	1	
2014.II.01.005	positief advies reeds gege- ven	36	19 mei 14	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.01.005	positief voor wijziging	36	19 mei 14	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.01.005	positief voor wijziging	36	19 mei 14	1 mrt 16	16 apr 2014		1	
2014.II.02.006	aanhouden	36	19 dec 13		19 feb 2014	1, 8, 14, 15,1 10, 30, 31, 33, 16, 20, 41		
2014.II.02.006	ingetrokken	36	19 dec 13		19 feb 2014		1	
2014.II.02.007	intentie positief, ambt. mogelijk	31	15 mrt 16		19 feb 2014	14, 15	1	
2014.II.02.007	positief advies	31	15 mrt 16	1 apr 16	19 feb 2014		1	
2014.II.02.007	positief voor wijziging	31	15 mrt 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.02.007	positief voor wijziging	31	15 mrt 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.02.007	positief voor wijziging	31	15 mrt 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.02.007	positief voor wijziging	31	15 mrt 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.02.008	positief advies	37	1 mrt 18	1 mrt 16	19 feb 2014			1
2014.II.02.008	positief voor wijziging	37	1 mrt 18	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.02.009	aanhouden, ambt. mogelijk	12	1 apr 16		19 feb 2014	7, 10, 14, 41	1	
2014.II.02.009	positief advies met opm.	12	1 apr 16	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld	15		1
2014.II.02.009	positief advies reeds gegeven	12	1 apr 16	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.02.009	positief voor wijziging	12	1 apr 16	1 apr 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.02.009	positief voor terugrapportage	12	1 apr 16	1 apr 16	2 jul 2014			1
2014.II.02.009	positief voor wijziging	12	1 apr 16	1 apr 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.02.010	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 feb 16		19 feb 2014	14, 31	1	
2014.II.02.010	positief advies	33	1 feb 16	1 apr 16	19 feb 2014			1
2014.II.02.011	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 jan 15		19 feb 2014	8, 14, 31, 39	1	
2014.II.02.011	positief advies	37	1 jan 15	1 mrt 16	19 feb 2014			1
2014.II.02.011	positief voor wijziging	37	1 jan 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.02.012	aanhouden	33	31 dec 15		19 feb 2014	7, 14, 16, 26, 27, 31	1	
2014.II.02.012	positief advies met opm.	33	31 dec 15	1 apr 16	19 mrt 2014	37,41	1	
2014.II.02.013	aanhouden	33	3 mrt 15		19 feb 2014	7, 8, 14, 15, 24, 27, 31, 41		
2014.II.02.013	continuering aanhouden	33	3 mrt 15		19 mrt 2014	37, 14, 7	1	
2014.II.02.013	aanhouden, ambt. mogelijk	33	3 mrt 15		2 jul 2014	14, 31	1	
2014.II.02.013	positief advies	33	3 mrt 15	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.02.013	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.03.014	aanhouden, ambt. mogelijk	37	15 mrt 16		19 mrt 2014	25, 7, 14	1	
2014.II.03.014	positief advies	37	15 mrt 16	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.03.015	positief advies met opm.	33	3 mrt 15	1 apr 16	19 mrt 2014	15, 31, 16, 18, 14	1	
2014.II.03.015	positief advies reeds gegeven	33	3 mrt 15	1 apr 16	14 mei 2015			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	14 mei 2014		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.015	positief voor wijziging	33	3 mrt 15	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.016	positief advies	9	30 jun 14	1 apr 16	19 mrt 2014		1	
2014.II.03.016	positief voor wijziging	9	30 jun 14	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.017	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jan 16		19 mrt 2014	7, 21, 19, 41, 33	1	
2014.II.03.017	positief advies	31	1 jan 16	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.03.017	positief voor wijziging	31	1 jan 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.018	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 apr 16		19 mrt 2014	7, 31	1	
2014.II.03.018	positief advies	12	1 apr 16	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.03.018	positief voor wijziging	12	1 apr 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.019	intentie positief, ambt. mogelijk	31	16 mrt 16		19 mrt 2014	7, 31	1	
2014.II.03.019	positief advies	31	16 mrt 16	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.03.019	positief voor wijziging	31	16 mrt 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.019	positief voor wijziging	31	16 mrt 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.019	positief voor wijziging	31	16 mrt 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.03.020	positief advies met opm.	37	1 jun 15	1 apr 16	19 mrt 2014	41, 14, 17, 31	1	
2014.II.03.020	positief advies reeds gegeven	37	1 jun 15	1 apr 16	16 apr 2014		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.03.021	positief advies met opm.	37	1 jan 15	1 apr 16	19 mrt 2014	7, 14	1	
2014.II.03.021	positief advies reeds gegeven	37	1 jan 15	1 apr 16	16 apr 2014		1	
2014.II.03.021	positief advies wijziging	37	1 jan 15	1 apr 16	16 apr 2014		1	
2014.II.03.022	intentie positief, ambt. mogelijk	31	onbekend		19 mrt 2014	31, 33	1	
2014.II.03.022	positief advies	31	onbekend	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.03.023	intentie positief, ambt. mogelijk	3	1 apr 15		19 mrt 2014	14, 7, 31, 28, 15, 33		1
2014.II.03.023	pos. wp1, int. wp2 + wp3	3	1 apr 15	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld	37		1
2014.II.03.023	ingetrokken	3	1 apr 15		19 mrt 2014			1
2014.II.03.024	aanhouden	33	1 mrt 16		19 mrt 2014	14, 41, 19, 31	1	
2014.II.03.024	positief advies met opm.	33	1 mrt 16	1 jun 16	14 mei 2014		1	
2014.II.03.025	overname pos.adv.DEC Consult		nb	23 sep 14	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.04.026	positief advies	33	4 aug 15	1 mei 16	16 apr 2014	7, 14, 15		1
2014.II.04.026	positief voor wijziging	33	4 aug 15	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.04.027	aanhouden	33	4 aug 15		16 apr 2014			1
2014.II.04.027	positief advies	33	4 aug 15	1 jun 16	14 mei 2014			1
2014.II.04.027	positief voor wijziging	33	4 aug 15	1 jun 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.04.028	aanhouden	3	1 apr 16		16 apr 2014	7, 14, 19	1	
2014.II.04.028	positief advies met vr.	3	1 apr 16	1 sep 16	20 aug 2014		1	
2014.II.04.029	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 jan 15		16 apr 2014	14		1
2014.II.04.029	positief advies	33	1 jan 15	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.04.030	positief advies met opm.	33	1 apr 15	1 mei 16	16 apr 2014	41		1
2014.II.04.030	positief advies reeds gegeven	33	1 apr 15	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.04.030	positief voor wijziging	33	1 apr 15	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.04.031	positief advies	37	11 jul 14	1 mei 16	16 apr 2014		1	
2014.II.04.032	positief advies met opm.	33	13 apr 14	1 mei 16	16 apr 2014	31, 28, 15		1
2014.II.04.032	positief advies reeds gegeven	33	13 apr 14	1 mei 16	11 jun 2014			1
2014.II.04.033	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 mei 15		16 apr 2014	7,18	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.04.033	positief advies	33	1 mei 15	1 jun 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.04.034	positief adv. met opm. en voorw.	33	1 mei 16	1 mei 16	16 apr 2014	41,18,14	1	
2014.II.04.034	continuering opmerking	33	1 mei 16	1 mei 16	11 jun 2014		1	
2014.II.04.034	positief advies reeds gegeven	33	1 mei 16	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.04.034	positief voor wijziging	33	1 mei 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.04.034	positief voor wijziging	33	1 mei 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.04.035	positief adv. met opm. en voorw.	33	31 mrt 14		16 apr 2014	31, 28, 16, 15, 41	1	
2014.II.04.035	positief advies reeds gegeven	33	31 mrt 14		11 jun 2014		1	
2014.II.05.036	positief advies	37	31 dec 14	1 jun 16	14 mei 2014		1	
2014.II.05.036	positief voor wijziging	37	31 dec 14	1 jun 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.05.037	intentie positief, ambt. mogelijk	36	1 mei 15		14 mei 2014	31, 14		1
2014.II.05.037	positief advies	36	1 mei 15	1 jun 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.05.037	positief voor wijziging	36	1 mei 15	1 jun 16	8 dec 2014			1
2014.II.05.038	intentie positief, ambt. mogelijk	37	15 jun 15		14 mei 2014	14, 7, 10, 39, 31	1	
2014.II.05.038	positief advies	37	15 jun 15	1 jul 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.05.039	intentie positief, ambt. mogelijk	3	1 jul 14		14 mei 2014	7, 14, 15	1	
2014.II.05.039	positief advies	3	1 jul 14	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.05.040	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 mei 16		14 mei 2014	14, 31		1
2014.II.05.040	positief advies	30	1 mei 16	1 jul 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.05.040	positief voor wijziging	30	1 mei 16	1 jul 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.05.040	positief voor wijziging	30	1 mei 16	1 jul 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.05.041	positief advies met vr. en opm.	37	1 mei 16	1 jun 16	14 mei 2014	9		1
2014.II.05.041	positief advies reeds gegeven	37	1 mei 16	1 jun 16	20 aug 2014			1
2014.II.05.041	positief voor wijziging	37	1 mei 16	1 jun 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.05.042	positief advies met opm.	37	1 mei 16	1 jun 16	14 mei 2014	7, 14		1
2014.II.05.042	continuering vraag	37	1 mei 16	1 jun 16	20 aug 2014	14		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.05.042	positief advies reeds gegeven	37	1 mei 16	1 jun 16	8 dec 2014			1
2014.II.06.043	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 okt 14		11 jun 2014	10, 39, 33, 31, 15, 4, 18	1	
2014.II.06.043	positief advies	31	1 okt 14	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.06.043	positief voor wijziging	31	1 okt 14	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.044	positief advies met vr.	31	1 jun 15	1 jul 16	11 jun 2014	39, 7	1	
2014.II.06.044	positief advies reeds gegeven	31	1 jun 15	1 jul 16	2 jul 2014		1	
2014.II.06.044	positief voor wijziging	31	1 jun 15	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.044	positief voor wijziging	31	1 jun 15	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.044	positief voor wijziging	31	1 jun 15	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.044	positief voor wijziging	31	1 jun 15	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.045	pos. wp1 + vr., aanh. wp2	31	31 dec 15	1 jul 16	11 jun 2014	7, 14, 39, 31, 33, 18	1	
2014.II.06.045	continuering aanhouden wp2	31	31 dec 15	1 jul 16	2 jul 2014	14, 7, 21	1	
2014.II.06.046	positief advies met opm.	33	1 aug 14	1 jul 16	11 jun 2014	33	1	
2014.II.06.047	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 jul 16		11 jun 2014	31, 33	1	
2014.II.06.047	positief advies	30	1 jul 16	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.06.047	positief voor wijziging	30	1 jul 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.047	positief voor wijziging	30	1 jul 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.047	positief voor wijziging	30	1 jul 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.048	positief advies met voorw.	31	nb	1 jul 16	11 jun 2014	33	1	
2014.II.06.048	positief voor wijziging	31	nb	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.048	positief voor wijziging	31	nb	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.048	positief voor wijziging	31	nb	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.048	positief voor wijziging	31	nb	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.049	positief advies met opm.	26	17 jul 14	1 jul 16	11 jun 2014	15, 33	1	
2014.II.06.049	positief advies reeds gegeven	26	17 jul 14	1 jul 16	2 jul 2014		1	
2014.II.06.049	positief voor wijziging	26	17 jul 14	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.06.049	positief voor wijziging	26	17 jul 14	1 jul 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.07.050	positief advies met voorw.	31	1 mrt 17	1 aug 17	2 jul 2014	37	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.07.050	positief voor wijziging	31	1 mrt 17	1 aug 17	proefdierdeskundige		1	
2014.II.07.051	overname pos.adv.DEC NKI-AVL	24	2 sep 16	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.07.052	positief advies	31	30 jun 16	1 aug 16	2 jul 2014		1	
2014.II.07.053	positief advies met vr. en opm.	33	1 aug 15	1 aug 16	2 jul 2014	9, 10, 7, 39		1
2014.II.07.053	positief advies reeds gegeven	33	1 aug 15	1 aug 16	20 aug 2014			1
2014.II.07.054	positief advies met vr.	31	1 jul 16	1 aug 16	2 jul 2014	27, 14	1	
2014.II.07.054	positief advies reeds gegeven	31	1 jul 16	1 aug 16	20 aug 2014		1	
2014.II.07.054	positief voor wijziging	31	1 jul 16	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.II.07.055	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 jul 16		2 jul 2014	14, 21, 37, 20		1
2014.II.07.055	positief advies	37	1 jul 16	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.07.055	positief voor terugrapportage	37	1 jul 16	1 aug 16	17 sep 2014			1
2014.II.07.056	positief advies met vr. en opm.	3	1 aug 15	1 aug 16	2 jul 2014	14, 33	1	
2014.II.07.056	positief advies reeds gegeven	3	1 aug 15	1 aug 16	17 sep 2015		1	
2014.II.08.057	positief adv. met opm. en voorw.	36	30 nov 14	1 sep 16	20 aug 2014	14, 31, 37	1	
2014.II.08.057	positief advies reeds gegeven	36	30 nov 14	1 sep 16	17 sep 2015		1	
2014.II.08.058	positief advies	33	1 okt 14	per email-ronde	1 sep 2016		1	
2014.II.08.059	overname pos. adv. DEC AMC		nb	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.08.059	positief voor wijziging		nb	1 aug 16	12 nov 2014		1	
2014.II.08.060	overname pos. adv. DEC AMC		nb	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.08.060	nog geen advies voor wijziging		nb	1 sep 16	8 dec 2014	41	1	
2014.II.08.060	positief voor wijziging		nb	1 sep 16	15 dec 2014		1	
2014.II.08.061	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 aug 15		20 aug 2014	10, 31, 37	1	
2014.II.08.061	positief advies	31	1 aug 15	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw vervolg
2014.II.08.062	positief advies met vr. en opm.	12	1 jan 15	1 sep 16	20 aug 2014	8, 14, 27, 33	1
2014.II.08.062	positief advies reeds gege- ven	12	1 jan 15	1 sep 16	15 okt 2014		1
2014.II.08.063	aanhouden	37	1 sep 15		20 aug 2014	14, 7, 31, 26, 28, 37	1
2014.II.08.063	positief advies	37	1 sep 15	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.II.08.063	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 okt 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.063	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 okt 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.063	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 okt 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.063	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 okt 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.064	aanhouden	31	1 sep 15		20 aug 2014	2	1
2014.II.08.064	positief advies met opm.	31	1 sep 15	1 okt 16	17 sep 2014		1
2014.II.08.065	positief advies met vr.	33	31 dec 15	1 sep 16	20 aug 2014	14	1
2014.II.08.065	positief advies reeds gege- ven	33	31 dec 15	1 sep 16	17 sep 2014		1
2014.II.08.065	positief voor wijziging	33	31 dec 15	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.066	intentie positief, ambt. mogelijk	36	31 okt 14		20 aug 2014	14	1
2014.II.08.066	positief advies	36	31 okt 14	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.II.08.066	positief voor wijziging	36	31 okt 14	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.066	positief voor wijziging	36	31 okt 14	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.067	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 sep 16		20 aug 2014	27, 31	1
2014.II.08.067	positief advies	37	1 sep 16	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.II.08.067	positief voor wijziging	37	1 sep 16	1 okt 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.068	positief advies met opm.	30	31 dec 15	1 sep 16	20 aug 2014	27, 15	1
2014.II.08.068	positief advies reeds gege- ven	30	31 dec 15	1 sep 16	17 sep 2014		1
2014.II.08.068	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.II.08.069	positief advies	37	21 jul 15	1 sep 16	20 aug 2014		1
2014.II.09.070	intentie positief, ambt. mogelijk	33	15 dec 14		17 sep 2014	7, 27, 31, 16, 33	1
2014.II.09.070	positief advies	33	15 dec 14	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.II.09.070	positief advies wijz. met voorw.	33	15 dec 14	1 okt 16	8 dec 2014	4	1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.09.071	intentie positief, ambt. mogelijk	13	1 jan 15		17 sep 2014	7, 41, 37		1
2014.II.09.071	positief advies	13	1 jan 15	1 nov 16	17 sep 2014			1
2014.II.09.071	positief voor wijziging	13	1 jan 15	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.09.072	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 nov 14		17 sep 2014	37, 31, 1		1
2014.II.09.072	positief advies	33	1 nov 14	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.09.072	positief voor wijziging	33	1 nov 14	1 okt 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.09.072	positief advies wijz. met voorw.	33	1 nov 14	1 okt 16	15 okt 2014	4		1
2014.II.09.072	positief voor wijziging	33	1 nov 14	1 okt 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.09.073	intentie positief, ambt. mogelijk	36	nb		17 sep 2014	41, 10, 7, 27, 31, 28, 38, 18, 33, 4, 37	1	
2014.II.09.073	positief advies	36	nb	1 nov 16	17 sep 2014		1	
2014.II.10.074	intentie positief, ambt. mogelijk	37	23 nov 15		15 okt 2014	14, 39, 15, 31, 3		1
2014.II.10.074	positief advies	37	23 nov 15	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.10.075	geen advies	9	1 sep 16		15 okt 2014	42		1
2014.II.10.075	aanhouden, ambt. mogelijk	9	1 sep 16		8 dec 2014	7, 41		1
2014.II.10.075	positief advies	9	1 sep 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.10.076	geen advies	31	1 jun 17		15 okt 2014	42	1	
2014.II.10.076	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jun 17		10 dec 2014	14, 19, 33	1	
2014.II.10.076	positief advies met voorw.	31	1 jun 17	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2014.II.10.077	intentie positief, ambt. mogelijk	12	30 sep 16		15 okt 2014	39, 15, 3	1	
2014.II.10.077	positief advies	12	30 sep 16	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.10.077	positief voor wijziging	12	30 sep 16	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.10.077	positief voor wijziging	12	30 sep 16	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.II.10.078	geen advies	33	1 okt 16		15 okt 2014	42	1	
2014.II.10.078	aanhouden, ambt. mogelijk	33	1 okt 16		12 nov 2014	7, 10, 27	1	
2014.II.10.078	positief advies	33	1 okt 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.11.079	positief advies met vr. en opm.	31	1 dec 15	1 dec 16	12 nov 2014	31		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.11.079	continuering vraag	31	1 dec 15	1 dec 16	10 dec 2014	31		1
2014.II.11.080	aanhouden	37	4 jan 17		12 nov 2014	7, 14, 10, 39, 33, 31	1	
2014.II.11.080	positief adv. met opm. en voorw.	37	4 jan 17	1 jan 17	8 dec 2014	14, 80	1	
2014.II.11.081	intentie positief, ambt. mogelijk	37	4 sep 15		12 nov 2014	14, 31, 15		1
2014.II.11.081	positief advies	37	4 sep 15	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.11.082	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 dec 14		12 nov 2014	7, 9, 14		1
2014.II.11.082	positief advies	37	1 dec 14	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.11.083	positief advies met vr. en voorw.	30	1 jan 17	1 dec 16	12 nov 2014	7, 14		1
2014.II.11.083	positief advies reeds gege- ven	30	1 jan 17	1 dec 16	3 dec 2014			1
2014.II.11.084	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jan 18		12 nov 2014	14, 7	1	
2014.II.11.084	positief advies met opm.	31	1 jan 18	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2014.II.11.085	aanhouden	8	29 jun 15		12 nov 2014	7, 14	1	
2014.II.11.085	positief advies met opm.	8	29 jun 15	1 jan 17	8 dec 2014	37	1	
2014.II.11.086	intentie positief, ambt. mogelijk	37	3 nov 16		12 nov 2014	7, 9, 14	1	
2014.II.11.086	positief advies	37	3 nov 16	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.11.087	overname pos. adv. DEC RUG		1 okt 18	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld			
2014.II.12.088	positief advies met vr. en opm.	12	1 sep 17	1 jan 17	8 dec 2014	14, 20, 33	1	
2014.II.12.089	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 dec 16		8 dec 2014	8, 14		1
2014.II.12.089	positief advies met voorw.	33	1 dec 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	21		1
2014.II.12.090	afgewezen	37	1 okt 15		8 dec 2014	7, 8, 31, 28	1	
2014.II.12.091	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jan 17		8 dec 2014	7, 14, 26, 31, 41		1
2014.II.12.091	positief advies met voorw.	31	1 jan 17	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	37		1
2014.II.12.092	pos. adv. met opm., vr., voorw.	33	1 jan 16	1 jan 17	8 dec 2014	8, 14, 18, 39, 31	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.12.092	positief advies reeds gegeven	33	1 jan 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.12.093	positief advies met opm.	9	1 jan 18	1 jan 18	8 dec 2014	41		1
2014.II.12.094	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jan 18		8 dec 2014	31, 14		1
2014.II.12.094	positief advies	31	1 jan 18	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.12.095	intentie positief, ambt. mogelijk	3	1 jan 18		8 dec 2014	14, 26, 31, 41		1
2014.II.12.095	pos. adv. met opm. en voorw.	3	1 jan 18	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	37, 41, 4		1
2014.II.12.096	aanhouden, ambt. mogelijk	31	1 mrt 17		8 dec 2014	7, 39		1
2014.II.12.096	positief advies	31	1 mrt 17	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.12.097	positief advies met vr. en opm.	31	30 dec 16	1 jan 17	8 dec 2014	14, 26, 27	1	
2014.II.12.098	aanhouden, ambt. mogelijk	31	31 dec 15		8 dec 2014	7, 10, 14, 15, 27	1	
2014.II.12.098	positief advies met voorw.	31	31 dec 15	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	37		1
2014.II.12.099	intentie positief, ambt. mogelijk	3	15 jan 16		8 dec 2014	7, 14, 15, 18, 26, 33, 39, 41	1	
2014.II.12.099	positief advies met voorw.	3	15 jan 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	4		1
2014.II.12.100	positief advies met opm. en vr.	33	1 dec 16	1 jan 17	8 dec 2014	14, 41		1
2014.II.12.101	intentie positief, ambt. mogelijk	37	22 jan 16		8 dec 2014	14, 15, 18	1	
2014.II.12.101	positief advies	37	22 jan 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.12.101	positief voor wijziging	37	22 jan 16	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2014.II.12.102	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jan 17		10 dec 2014	7, 8, 15		1
2014.II.12.102	positief advies met voorw.	31	1 jan 17	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	37		1
2014.II.12.103	positief advies met vr. en voorw.	12	1 feb 16	1 jan 17	10 dec 2014	8, 14		1
2014.II.12.104	positief advies met vr. en opm.	31	nb	1 jan 17	10 dec 2014	14, 31		1
2014.II.12.105	positief advies met vr. en opm.	31	31 dec 15	1 jan 17	10 dec 2014	4, 14, 27, 31		1
2014.II.12.106	aanhouden	33	7 jan 16		10 dec 2014	7, 8, 14, 27	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.II.12.107	pos. adv. met vr., opm., voorw.	33	1 jan 16	1 jan 17	10 dec 2014	15, 28, 33	1	
2014.II.12.108	positief advies	37	31 dec 17	1 jan 18	10 dec 2014	37		1
2014.II.12.109	pos. voor exp A, geen adv. B	37	30 apr 15	1 jan 17	10 dec 2014	A:10, 14, 17, 26, 31, 41 B:7, 8	1	
2014.II.12.110	positief advies met opm.	12	1 jul 16	1 jan 17	8 dec 2014	14		1
2014.II.12.111	positief advies	29	1 mrt 18	1 jan 18	10 dec 2014	37		1
2014.II.12.112	aanhouden, ambt. mogelijk	37	1 dec 16		10 dec 2014	7, 14, 15, 27, 33		1
2014.II.12.112	positief advies	37	1 dec 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.12.113	positief advies met opm.	33	1 dec 16	1 jan 17	10 dec 2014	37, 39		1
2014.II.12.114	aanhouden, ambt. mogelijk	31	1 jan 16		10 dec 2014	8, 14, 27, 31, 41	1	
2014.II.12.114	positief advies	31	1 jan 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.II.12.115	aanhouden	31	1 jan 16		10 dec 2014	7, 8, 14, 31, 41		
2014.II.12.115	positief advies met opm.	31	1 jan 16	1 jan 17	10 dec 2014	16, 41	1	
2014.II.12.116	aanhouden	31	1 jan 16		10 dec 2014	7, 8, 14, 31, 41		
2014.II.12.116	ingetrokken	31	1 jan 16		10 dec 2014		1	
2014.II.12.117	positief advies met opm.	8	1 jan 18	1 jan 18	10 dec 2014	37, 18		1
2014.II.12.118	positief advies	13	1 jan 15	1 jan 17	10 dec 2014		1	
2014.II.12.119	positief advies met opm.	31	31 jul 16	1 jan 17	emailronde kamer II	15		1
2014.II.12.119	positief advies reeds gegeven	31	31 jul 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.II.12.120	overname pos. adv. DEC AMC		nb	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld		1	

Kamer III

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2009								
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 jul 14	proefdierdeskundige			
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 jul 14	proefdierdeskundige			
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 jul 14	proefdierdeskundige			
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 jul 14	proefdierdeskundige			
2010								
2010.III.06.073	positief voor wijziging	36	1 jun 17	1 jul 14	proefdierdeskundige			
2011								
2011.III.01.008	positief voor wijziging	36	1 sep 13	1 mrt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.01.012	positief voor wijziging	30	1 mrt 12	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2011.III.01.012	positief voor wijziging	30	1 mrt 12	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2011.III.01.012	positief voor wijziging	30	1 mrt 12	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	1 feb 13	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	1 feb 13	1 apr 16	22 jan 2014		1	
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	1 feb 13	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	1 feb 13	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	1 feb 13	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	1 feb 13	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	1 jun 12	1 mei 14	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	1 jun 12	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	1 jun 12	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	1 jun 12	1 mei 16	proefdierdeskundige			1
2011.III.06.055	positief voor wijziging	29	nb	1 sep 14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	cont. positief advies met opm.	29	6 jul 05	1 sep 14	22 jan 2013	41		1
2011.III.07.063	voorl. positief advies wijziging	29	6 jul 05	1 sep 14	ambtelijk afgehandeld			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	6 jul 05	1 sep 14	26 feb 2014			1
2011.III.07.063	positief advies reeds gege- ven	29	6 jul 05	1 sep 14	26 feb 2014			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	1 aug 12	1 aug 14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	1 aug 12	1 aug 14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	1 aug 12	1 aug 14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	1 aug 12	1 aug 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.07.066	positief advies reeds gegeven	29	1 aug 14	1 aug 14	9 jul 2014		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	1 aug 14	1 aug 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	1 aug 14	1 aug 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	1 aug 14	1 aug 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor terugrapportage	5	1 sep 12	1 okt 14	26 feb 2014		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep 12	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.082	positief voor terugrapportage	12	1 jun 12	1 sep 12	22 jan 2014		1	
2011.III.09.098	positief voor wijziging	30	31 dec 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2011.III.09.101	continuering positief advies	29	1 okt 14	1 okt 14	26 feb 2014		1	
2011.III.09.101	positief advies reeds gegeven	29	1 okt 14	1 okt 14	23 apr 2014		1	
2011.III.10.107	cont. positief advies met vr.	37	1 nov 14	1 nov 14	18 jun 2014	31	1	
2011.III.10.107	positief advies reeds gegeven	37	1 nov 14	1 nov 14	9 jul 2014		1	
2011.III.10.110	positief voor wijziging	30	1 dec 12	1 nov 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.10.110	positief voor wijziging	30	1 dec 12	1 nov 14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.10.110	positief voor wijziging	30	1 dec 12	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2011.III.10.110	positief voor wijziging	30	1 dec 12	1 nov 15	proefdierdeskundige		1	
2012								
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec 12	1 mrt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.01.005	positief voor wijziging	30	1 feb 15	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.01.005	positief voor wijziging	30	1 feb 15	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.01.005	positief voor wijziging	30	1 feb 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.III.01.009	aanvraag ingetrokken	37	1 feb 14		13 jan 2014		1	
2012.III.02.012	positief voor wijziging	37	15 mrt 13	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt 13	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt 13	1 apr 15	27 aug 2014		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt 13	1 apr 15	27 aug 2014		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt 13	1 apr 15	27 aug 2014		1	
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr 13	1 dec 14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr 13	1 dec 14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr 13	1 dec 14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.020	positief voor wijziging	37	nb	1 jun 14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.020	positief voor wijziging	37	nb	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.027	positief voor wijziging	33	1 okt 13	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.027	positief voor wijziging	33	1 okt 13	1 okt 15	19 nov 2014		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb 14	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb 14	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb 14	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb 14	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb 14	1 apr 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor terugrap. met vr.	10	28 feb 14	1 apr 14	19 nov 2014	7	1	
2012.III.03.028	pos. voor terugrap. reeds geg.	10	28 feb 14	1 apr 14	15 dec 2014		1	
2012.III.04.030	continuering positief advies	33	1 apr 15	1 mei 15	26 feb 2014	37		1
2012.III.04.030	positief voor wijziging	33	1 apr 15	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.030	positief voor wijziging	33	1 apr 15	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.030	continuering positief advies	33	1 apr 15	1 mei 15	18 jun 2014			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei 13	1 jun 14	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei 13	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei 13	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei 13	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei 13	1 jun 15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.III.05.041	positief voor wijziging	37	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.041	int. cont. pos., ambt. mogelijk	37	1 jun 15	1 jun 15	21 mei 2014	41, 31	1	
2012.III.05.041	positief voor wijziging	37	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.041	positief voor wijziging	37	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.041	continuering positief advies	37	1 jun 15	1 jul 15	19 nov 2014		1	
2012.III.05.041	positief voor wijziging	37	1 jun 15		proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	27 aug 2014		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.045	continuering positief advies	26	1 jun 15	1 jun 15	27 aug 2014			1
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	1 jun 15	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.047	positief voor wijziging	30	1 jun 13	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.047	positief voor wijziging	30	1 jun 13	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.049	positief voor wijziging	30	1 jun 13	1 jun 14	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.049	positief voor wijziging	30	1 jun 13	1 jun 14	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug 15	1 jul 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	int.cont. pos. ambt. mogelijk	29	31 aug 15	1 jul 15	9 jul 2014	31, 33		1
2012.III.06.054	continuering positief advies	29	31 aug 15	1 jul 15	ambtelijk afgehandeld			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug 15	1 jul 15	27 aug 2014			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug 15	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug 15	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.06.055	int.cont. pos. ambt. mogelijk	29	30 jun 15	1 jul 15	9 jul 2014	31	1	
2012.III.06.055	continuering positief advies	29	30 jun 15	1 jul 15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec 12	1 jan 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.06.058	positief voor wijziging	29	1 jul 15	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.079	positief voor wijziging	30	17 sep 14	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.079	positief voor wijziging	30	17 sep 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	nb	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	nb	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	nb	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	nb	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	nb	1 mrt 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.083	positief voor wijziging	37	nb	1 okt 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.083	positief voor wijziging	37	nb	1 apr 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.10.102	positief voor wijziging	30	31 okt 14	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.10.102	positief voor wijziging	30	31 okt 14	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.10.102	positief voor wijziging	30	31 okt 14	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.117	positief voor wijziging	9	1 nov 15	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.117	positief voor terugrapportage	9	1 nov 15	1 jan 15	15 dec 2014		1	
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.119	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 dec 14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.119	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.119	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.123	positief voor wijziging	30	1 dec 15	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.124	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2012.III.12.125	positief voor terugrapportage	22	30 apr 13	1 mrt 15	22 jan 2014		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./opmerking	nieuw	vervolg
2012.III.12.126	positief voor wijziging	3	1 dec 13	1 jan 17	27 aug 2014		1	
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	voorl. pos. advies voor wijziging	30	1 jan 15	1 feb 15	ambtelijk afgehandeld			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 feb 15	26 feb 2014			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 sep 17	27 aug 2014			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 sep 17	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.130	positief voor wijziging	33	1 jan 14	1 jan 15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.135	positief voor wijziging	30	7 jan 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.12.135	positief voor wijziging	30	7 jan 15	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.12.136	positief voor wijziging	33	28 feb 15	1 januari 2015 (C1)	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.136	positief voor wijziging	33	28 feb 15	1 januari 2015 (C1)	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.137	positief voor wijziging	30	1 jan 15	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.138	afgewezen voor terugrap.	29	1 jun 16	1 jan 15	22 jan 2014			1
2013								
2013.III.01.005	positief voor wijziging	37	3 sep 14	1 feb 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.01.007	positief voor wijziging	33	1 feb 14	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.007	positief voor wijziging	33	1 feb 14	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.009	positief voor wijziging	3	1 feb 14	1 feb 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.010	positief voor terugrapportage	26	31 mei 13	1 mrt 15	22 jan 2014		1	
2013.III.01.011	positief voor wijziging		1 jan 16	1 mrt 16	26 feb 2014			1
2013.III.01.011	continuering positief advies		1 jan 16	1 mrt 16	26 mrt 2014			1
2013.III.01.011	positief voor wijziging		1 jan 16	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.011	positief voor wijziging		1 jan 16	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.012	positief voor wijziging	29	31 dec 13	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.02.020	int. voor wijz., ambt. mogelijk	30	31 dec 14	1 aug 15	23 apr 2014	14, 31, 41, 7	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.III.02.020	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 aug 15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.02.020	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.02.020	intentie positief, ambt. mogelijk	30	31 dec 14	1 aug 15	19 nov 2014	9, 41	1	
2013.III.02.020	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.02.020	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.02.020	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 aug 16	15 dec 2014		1	
2013.III.02.020	positief advies C2 met opm.	30	31 dec 14	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld	41	1	
2013.III.03.022	positief voor wijziging	29	1 mei 14	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.022	positief voor wijziging	29	1 mei 14	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.022	positief voor wijziging	29	1 mei 14	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.024	positief voor wijziging	3	13 mrt 15	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.03.024	positief voor wijziging	3	13 mrt 15	1 jul 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.03.024	positief voor wijziging	3	13 mrt 15	1 jan 18	proefdierdeskundige		1	
2013.III.03.026	positief voor wijziging	30	1 mrt 15	1 apr 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.026	positief voor wijziging	30	1 mrt 15	1 aug 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.026	positief voor wijziging	30	1 mrt 15	1 aug 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.026	positief voor wijziging	30	1 mrt 15	1 aug 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.030	positief voor wijziging	30	30 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.03.031	continuering positief advies	37	15 mei 16	1 mei 15	18 jun 2014		1	
2013.III.03.031	positief voor wijziging	37	15 mei 16	1 mei 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.03.031	positief voor wijziging	37	15 mei 16	1 mei 15	19 nov 2014		1	
2013.III.04.034	positief voor wijziging	30	30 apr 14	1 jun 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.04.038	positief voor wijziging	12	1 mei 14	1 mei 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.05.042	positief voor wijziging	33	1 jul 14	1 jun 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.043	positief voor wijziging	33	1 apr 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.043	positief voor wijziging	33	1 apr 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.043	positief voor wijziging	33	1 apr 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.048	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.048	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.048	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.048	positief voor wijziging	33	1 aug 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.III.07.051	positief voor wijziging	12	1 jan 14	1 aug 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.07.052	positief voor wijziging		1 aug 16	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2013.III.07.052	positief voor wijziging		1 aug 16	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2013.III.07.052	positief voor wijziging		1 aug 16	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2013.III.07.052	positief voor wijziging		1 aug 16	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2013.III.07.052	positief voor wijziging		1 aug 16	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.054	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.08.054	positief voor wijziging	37	1 jul 14	1 okt 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.08.055	positief voor wijz. met vr.	29	31 aug 15	1 okt 15	27 aug 2014	14	1	
2013.III.08.055	positief advies reeds gegeven	29	31 aug 15	1 okt 15	24 sep 2014		1	
2013.III.08.056	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 sep 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.056	positief voor wijziging	30	31 dec 14	1 sep 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.056	continuering positief advies	30	31 dec 14	1 sep 16	9 jul 2014			1
2013.III.08.058	positief advies reeds gegeven	37	28 nov 14	1 sep 15	22 jan 2014			1
2013.III.08.058	positief voor wijziging	37	28 nov 14	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.059	positief advies reeds gegeven	37	29 aug 14	1 sep 15	22 jan 2014			1
2013.III.08.060	positief advies reeds gegeven	33	1 mrt 15	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.08.060	positief voor wijziging	33	1 mrt 15	1 sep 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	22 jan 2014			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	pos. adv. voor wijz. met voorw.	30	1 sep 15	1 sep 15	26 mrt 2014			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	voorl. pos. advies voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	23 apr 2014			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	positief adv. voor wijz. met opm.	30	1 sep 15	1 sep 15	9 jul 2014	14		1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	pos. adv. voor wijz. reeds geg.	30	1 sep 15	1 sep 15	27 aug 2014			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 15	27 aug 2014			1
2013.III.09.062	positief advies voor wijziging	29	6 okt 14	1 okt 14	proefdierdeskundige			1
2013.III.09.062	positief advies voor wijziging	29	6 okt 14	1 okt 14	proefdierdeskundige			1
2013.III.09.062	positief voor terugrapportage	29	6 okt 14	1 okt 14	24 sep 2014			1
2013.III.09.067	positief voor wijziging	30	1 okt 14	1 nov 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.10.069	positief voor wijziging	33	onbekend	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.10.069	positief voor wijziging	33	onbekend	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.10.070	positief voor wijziging	8	2 nov 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.10.072	positief voor wijziging	30	30 sep 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.10.072	positief voor wijziging	30	30 sep 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.10.073	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.10.073	positief voor wijziging	37	1 sep 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.074	positief advies reeds gegeven	12	1 dec 15	1 jan 16	22 jan 2014		1	
2013.III.11.074	positief voor wijziging	12	1 dec 15	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.074	positief voor wijziging	12	1 dec 15	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.075	positief advies	37	28 jan 14	1 feb 16	22 jan 2014		1	
2013.III.11.075	positief voor wijziging	37	28 jan 14	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.075	positief voor wijziging	37	28 jan 14	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.079	positief advies met opm.	33	1 dec 15	1 feb 16	22 jan 2014	1, 3	1	
2013.III.11.079	positief advies reeds gegeven	33	1 dec 15	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.11.079	positief voor wijziging	33	1 dec 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.079	positief voor wijziging	33	1 dec 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.079	positief voor wijziging	33	1 dec 15	1 feb 16	15 dec 2014		1	
2013.III.11.079	positief voor wijziging	33	1 dec 15	1 jan 18	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.079	positief voor wijziging	33	1 dec 15	1 jan 18	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.III.11.080	positief advies reeds gegeven	30	1 dec 15	1 dec 15	22 jan 2014			1
2013.III.11.080	positief voor wijziging	30	1 dec 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.080	positief voor wijziging	30	1 dec 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.081	positief voor wijziging	33	1 dec 15	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.082	positief advies reeds gegeven	9	1 dec 14	1 dec 15	22 jan 2014		1	
2013.III.11.082	positief voor wijziging	9	1 dec 14	1 dec 15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.083	positief voor wijziging	12	1 nov 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.083	positief voor wijziging	12	1 nov 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.083	positief voor wijziging	12	1 nov 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.083	positief voor wijziging	12	1 nov 15	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.085	positief voor wijziging	3	30 nov 14	1 dec 15	proefdierdeskundige			1
2013.III.11.085	afgewezen voor wijziging	3	30 nov 14	1 dec 15	27 aug 2014			1
2013.III.12.086	positief advies met opm.	37	niet ingevuld	1 feb 16	22 jan 2014	37, 15	1	
2013.III.12.086	positief voor wijziging	37	niet ingevuld	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.12.086	positief voor wijziging	37	niet ingevuld	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.12.087	positief advies reeds gegeven	27	4 jul 14	1 jan 16	22 jan 2014		1	
2013.III.12.087	positief voor wijziging	27	4 jul 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.12.087	positief voor wijziging	27	4 jul 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.12.088	positief voor wijziging	36	nb	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.12.089	positief voor wijziging	37	1 feb 17	1 jan 17	proefdierdeskundige			1
2013.III.12.090	positief advies reeds gegeven	12	1 feb 16	1 jan 16	26 feb 2014		1	
2013.III.12.091	positief advies reeds gegeven	37	1 feb 15	1 jan 16	22 jan 2014			
2013.III.12.092	positief voor wijziging	14	17 feb 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.12.092	positief voor wijziging	14	17 feb 14	1 jan 16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.12.093	positief advies reeds gegeven	37	12 apr 14	1 jan 16	26 feb 2014			1
2013.III.12.094	positief advies reeds gegeven	30	31 dec 15	1 jan 16	22 jan 2014			1
2013.III.12.094	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 jan 16	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2013.III.12.094	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.12.094	pos. adv. voor wijz. met voorw.	30	31 dec 15	1 jan 16	26 mrt 2014	3, 4		1
2013.III.12.094	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.12.094	pos. adv. voor wijz. met voorw.	30	31 dec 15	1 jan 16	21 mei 2014	41		1
2013.III.12.094	pos. adv. voor wijz. reeds geg.	30	31 dec 15	1 jan 16	18 jun 2014			1
2013.III.12.094	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 jan 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.12.094	Int. pos. wijz., ambt. mogelijk.	30	31 dec 15	1 jan 16	9 jul 2014	14, 15		1
2013.III.12.094	positief voor wijz. met vr.	30	31 dec 15	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld	41		1
2013.III.12.094	positief advies reeds gegeven	30	31 dec 15	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.12.094	positief adv. voor wijz. met opm.	30	31 dec 15	1 aug 16	27 aug 2014	14, 15		1
2013.III.12.094	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.12.094	pos. adv. voor wijz. reeds geg.	30	31 dec 15	1 aug 16	22 okt 2014			1
2013.III.12.094	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2013.III.12.094	positief adv. voor wijz. met opm.	30	31 dec 15	1 aug 16	15 dec 2014	41, 4, 37		1
2013.III.12.094	positief voor wijziging	30	31 dec 15	1 aug 16	proefdierdeskundige			1
2014								
2014.III.01.001	positief advies met opm. en vr.	33	31 dec 15	1 feb 16	22 jan 2014	1, 4, 15, 33	1	
2014.III.01.001	continuering opmerking	33	31 dec 15	1 feb 16	26 feb 2014	16	1	
2014.III.01.001	positief advies reeds gegeven	33	31 dec 15	1 feb 16	26 mrt 2014		1	
2014.III.01.001	positief voor wijziging	33	31 dec 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.001	positief voor wijziging	33	31 dec 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.001	positief voor wijziging	33	31 dec 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.002	positief advies met vr. en opm.	33	1 feb 15	1 feb 16	22 jan 2014	31, 28, 37		1
2014.III.01.002	continuering vraag	33	1 feb 15	1 feb 16	26 feb 2014	37		1
2014.III.01.003	positief advies met opm.	33	1 feb 15	1 feb 16	22 jan 2014	40, 39, 15, 28, 26		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.01.003	continuering opmerking	33	1 feb 15	1 feb 16	26 mrt 2014	26		1
2014.III.01.003	positief advies reeds gegeven	33	1 feb 15	1 feb 16	23 apr 2014			1
2014.III.01.003	positief voor wijziging	33	1 feb 15	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.01.004	positief advies met opm.	37	30 okt 15	1 feb 16	22 jan 2014	27, 33	1	
2014.III.01.004	positief advies reeds gegeven	37	30 okt 15	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.01.004	positief voor wijziging	37	30 okt 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.004	positief voor wijziging	37	30 okt 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.004	positief voor wijziging	37	30 okt 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.004	positief voor wijziging	37	30 okt 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.004	positief voor wijziging	37	30 okt 15	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.005	positief advies met opm.	37	1 jun 16	1 feb 16	22 jan 2014	28	1	
2014.III.01.005	positief advies reeds gegeven	37	1 jun 16	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.01.006	positief advies met opm.	37	1 feb 17	1 feb 17	22 jan 2014	16, 18		1
2014.III.01.006	positief advies reeds gegeven	37	1 feb 17	1 feb 16	26 feb 2014			1
2014.III.01.006	positief voor wijziging	37	1 feb 17	1 feb 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.01.007	positief advies met opm.	37	1 mrt 14	1 feb 16	22 jan 2014	39		1
2014.III.01.007	positief advies reeds gegeven	37	1 mrt 14	1 feb 16	26 feb 2014			1
2014.III.01.008	positief advies met opm.	33	15 feb 15	1 feb 16	22 jan 2014	31, 28, 15	1	
2014.III.01.008	positief advies reeds gegeven	33	15 feb 15	1 feb 16	26 feb 2014		1	
2014.III.01.009	positief advies met opm.	29	1 feb 16	1 feb 16	22 jan 2014	39, 33		1
2014.III.01.009	positief advies reeds gegeven	29	1 feb 16	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.01.010	aanhouden	33	31 jan 16		22 jan 2014	33, 15, 4		
2014.III.01.010	positief advies	33	31 jan 16	1 mrt 16	26 feb 2014			
2014.III.01.010	positief voor wijziging	33	31 jan 16	1 mrt 16	proefdierdeskundige			
2014.III.01.011	positief advies met opm.	30	31 jauari 2015	1 feb 16	22 jan 2014	15, 16, 33	1	
2014.III.01.011	continuering vraag	30	31 jauari 2015	1 feb 16	26 feb 2014	16	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.01.011	positief voor wijziging	30	31 jauari 2015	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.011	positief advies reeds gegeven	30	31 jauari 2015	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.01.011	positief voor wijziging	30	31 jauari 2015	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.011	positief voor wijziging	30	31 jauari 2015	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.011	positief voor wijziging	30	31 jauari 2015	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.012	positief advies met opm.	3	1 feb 16	1 feb 16	22 jan 2014	18, 33	1	
2014.III.01.012	positief advies reeds gegeven	3	1 feb 16	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.01.012	afgewezen voor wijziging	3	1 feb 16	1 feb 16	27 aug 2014		1	
2014.III.01.013	positief advies	30	1 februari 2015	1 feb 16	22 jan 2014		1	
2014.III.01.013	positief voor wijziging	30	1 februari 2015	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.013	positief voor wijziging	30	1 februari 2015	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.013	positief voor wijziging	30	1 februari 2015	1 feb 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.014	intentie positief, ambt. mogelijk	3	1 mrt 15		22 jan 2014	14, 31, 28	1	
2014.III.01.014	positief advies	3	1 mrt 15	1 mrt 16	22 jan 2014		1	
2014.III.01.014	positief voor wijziging	3	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.014	positief voor wijziging	3	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.014	positief voor wijziging	3	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.014	positief voor wijziging	3	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.014	positief voor wijziging	3	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.014	positief voor wijziging	3	1 mrt 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.01.015	overname pos. advies ADEC	5	nb	1 feb 16	ambtelijk afgehandeld			
2014.III.01.015	positief voor wijziging	5	nb	1 feb 16	proefdierdeskundige			
2014.III.01.015	positief voor wijziging	5	nb	1 feb 16	proefdierdeskundige			
2014.III.02.016	intentie positief, ambt. mogelijk	29	28 feb 17		26 feb 2014	14, 16	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.02.016	positief advies	29	28 feb 17	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.02.017	positief advies met opm.	29	1 mrt 17	1 mrt 16	26 feb 2014	30		1
2014.III.02.017	positief advies reeds gegeven	29	1 mrt 17	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.02.017	positief voor wijziging	29	1 mrt 17	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.02.017	positief voor wijziging	29	1 mrt 17	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.02.017	positief voor wijziging	29	1 mrt 17	1 mrt 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.02.018	positief advies met voorw.	27	1 mrt 16	1 mrt 17	26 feb 2014	37	1	
2014.III.02.018	positief voor wijziging	27	1 mrt 16	1 mrt 17	26 feb 2014		1	
2014.III.02.018	positief voor wijziging	27	1 mrt 16	1 mrt 17	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.019	positief advies met opm.	33	1 feb 15	1 mrt 16	26 feb 2014	14, 27, 26, 15, 33, 17, 41	1	
2014.III.02.019	positief advies reeds gegeven	33	1 feb 15	1 mrt 16	26 mrt 2014		1	
2014.III.02.019	positief voor wijziging	33	1 feb 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.020	positief advies met opm.	33	17 feb 15	1 mrt 16	26 feb 2014	14, 27, 26, 15, 33, 17	1	
2014.III.02.020	positief advies reeds gegeven	33	17 feb 15	1 mrt 16	26 mrt 2014		1	
2014.III.02.020	positief voor wijziging	33	17 feb 15	1 mrt 16	26 mrt 2014		1	
2014.III.02.021	aanhouden	36	1 jan 16		26 feb 2014	7, 14, 33		1
2014.III.02.021	positief advies	36	1 mrt 16	1 apr 16	26 mrt 2014			1
2014.III.02.022	intentie positief, ambt. mogelijk	3	31 jan 16		26 feb 2014	14, 39, 2, 27, 31, 15, 24	1	
2014.III.02.022	positief voor pilot	3	31 jan 16	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.02.022	pos.C2-C5 met opm.,C1 al geg.	3	31 jan 16	1 mei 16	9 jul 2014	14, 15	1	
2014.III.02.022	positief advies reeds gegeven	3	31 jan 16	1 mei 16	27 aug 2014		1	
2014.III.02.022	positief voor wijziging	3	31 jan 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.023	positief advies met opm.	12	1 jul 14	1 mrt 16	26 feb 2014	7		1
2014.III.02.023	positief advies reeds gegeven	12	1 jul 14	1 mrt 16	23 apr 2014			1
2014.III.02.023	positief voor terugrapportage	12	1 jul 14	1 mrt 16	22 okt 2014			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.02.024	positief advies	nb	nb	1 mrt 16	26 feb 2014		1	
2014.III.02.024	positief voor wijziging	nb	nb	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.024	positief voor wijziging	nb	nb	1 mrt 16	19 nov 2014		1	
2014.III.02.024	positief voor wijziging	nb	nb	1 mrt 16	15 dec 2014		1	
2014.III.02.025	positief advies met opm.	33	27 feb 15	1 mrt 16	26 feb 2014	26, 31, 14, 15	1	
2014.III.02.025	positief advies reeds gegeven	33	27 feb 15	1 mrt 16	23 apr 2014		1	
2014.III.02.025	positief voor wijziging	33	27 feb 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.025	positief voor wijziging	33	27 feb 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.025	positief voor wijziging	33	27 feb 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.025	positief voor wijziging	33	27 feb 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.025	positief voor wijziging	33	27 feb 15	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.026	positief advies met opm.	3	31 mrt 14	1 mrt 16	26 feb 2014	14, 27, 41	1	
2014.III.02.026	positief advies reeds gegeven	3	31 mrt 14	1 mrt 16	23 apr 2014		1	
2014.III.02.026	positief voor wijziging	3	31 mrt 14	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.026	positief voor wijziging	3	31 mrt 14	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.026	positief voor wijziging	3	31 mrt 14	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.026	positief voor wijziging	3	31 mrt 14	1 mrt 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.02.027	positief advies met opm.	30	2 feb 15	1 mrt 16	26 feb 2014	14	1	
2014.III.02.027	positief advies reeds gegeven	30	2 feb 15	1 mrt 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.03.028	positief advies met opm.	36	1 feb 15	1 apr 16	26 mrt 2014	15, 17, 33	1	
2014.III.03.028	continuering vraag	36	1 feb 15	1 apr 16	23 apr 2014	17	1	
2014.III.03.028	positief advies met voorw.	36	1 feb 15	1 apr 16	21 mei 2014		1	
2014.III.03.029	pos.wp1+opm. , voorw. int. wp2	33	1 apr 16	1 apr 16	26 mrt 2014	27, 31	1	
2014.III.03.029	positief adv. wp2 met voorw.	33	1 apr 16	1 apr 16	23 apr 2014	37	1	
2014.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 apr 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.03.030	positief advies met opm.	36	1 apr 15	1 apr 16	26 mrt 2014	18	1	
2014.III.03.030	positief advies reeds gegeven	36	1 apr 15	1 apr 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.03.031	intentie positief, ambt. mogelijk	30	25 mrt 14		26 mrt 2014	27, 31	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./opmerking	nieuw vervolg
2014.III.03.031	positief advies	30	25 mrt 14	1 mei 16	26 mrt 2014		1
2014.III.03.031	positief voor wijziging	30	25 mrt 14	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.031	positief voor wijziging	30	25 mrt 14	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.031	positief adv. voor wijz. met opm.	30	25 mrt 14	1 mei 16	9 jul 2014	31	1
2014.III.03.031	positief voor wijziging	30	25 mrt 14	1 mei 16	9 jul 2014		1
2014.III.03.032	pos.wp1+opm.,voorw. Int. wp2-6	33	1 apr 16	1 apr 16	26 mrt 2014	18, 27, 31, 37	1
2014.III.03.032	pos. wp2, aanh. wp3 t/m 6	33	1 apr 16	1 apr 16	23 apr 2014	31	1
2014.III.03.032	positief voor wijziging	33	1 apr 16	1 apr 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.032	positief advies wp3 t/m wp6	33	1 apr 16	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.03.032	positief voor wijziging	33	1 apr 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.032	positief voor wijziging	33	1 apr 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.032	positief voor wijziging	33	1 apr 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.033	aanhouden	33	31 dec 15		26 mrt 2014	7, 14, 15, 18, 31, 33	1
2014.III.03.033	positief advies	33	31 dec 15	1 jun 16	21 mei 2014		1
2014.III.03.033	positief advies reeds gegeven	33	31 dec 15	1 jun 16	9 jul 2014		1
2014.III.03.034	positief advies met opm.	30	1 mrt 15	1 apr 16	26 mrt 2014	14, 18, 20, 31, 41	1
2014.III.03.034	positief advies reeds gegeven	30	1 mrt 15	1 apr 16	9 jul 2014		1
2014.III.03.035	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 apr 15		26 mrt 2014	10, 14, 16, 39	1
2014.III.03.035	positief advies	12	1 apr 15	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.03.035	positief voor wijziging	12	1 apr 15	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.035	positief voor wijziging	12	1 apr 15	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.035	positief voor wijziging	12	1 apr 15	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.035	positief voor wijziging	12	1 apr 15	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.035	positief voor wijziging	12	1 apr 15	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.03.036	positief advies	13	31 okt 14	1 apr 16	26 mrt 2014		1
2014.III.03.036	positief voor wijziging	13	31 okt 14	1 apr 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.037	intentie positief, ambt. mogelijk	3	1 mei 15		23 apr 2014	14, 27, 8, 26	1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./opmerking	nieuw vervolg
2014.III.04.037	positief advies	3	1 mei 15	1 jul 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.04.037	positief voor wijziging	3	1 mei 15	1 jul 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.037	positief voor wijziging	3	1 mei 15	1 jul 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.037	positief voor wijziging	3	1 mei 15	1 jul 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.038	positief advies met opm.	36	3 mrt 14	1 mei 16	23 apr 2014		1
2014.III.04.038	positief advies reeds gegeven	36	3 mrt 14	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.04.038	positief voor wijziging	36	3 mrt 14	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.038	positief voor wijziging	36	3 mrt 14	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.038	positief voor wijziging	36	3 mrt 14	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.039	aanhouden	nb	nb		23 apr 2014	7, 8, 18	1
2014.III.04.039	positief advies met opm.	nb	nb	1 jul 16	18 jun 2014		1
2014.III.04.040	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 aug 14		23 apr 2014	7, 27, 33, 38, 39	1
2014.III.04.040	positief advies	12	1 aug 14	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.04.041	positief advies met vr. en opm.	3	1 mei 16	1 mei 16	23 apr 2014	14, 31, 27, 15, 17	1
2014.III.04.041	aanvullende vraag	3	1 mei 16	1 mei 16	21 mei 2014		1
2014.III.04.041	pos.adv.geg., pos.wijz.met opm.	3	1 mei 16	1 mei 16	9 jul 2014	17	1
2014.III.04.041	positief advies reeds gegeven	3	1 mei 16	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.04.041	positief voor wijziging	3	1 mei 16	1 mei 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.042	geen DEC-aanvraag	10	1 jun 17		23 apr 2014		1
2014.III.04.043	positief advies met vr. en opm.	30	1 sep 15	1 mei 16	23 apr 2014	27, 41	1
2014.III.04.043	positief advies reeds gegeven	30	1 sep 15	1 mei 16	21 mei 2014		1
2014.III.04.044	positief advies	26	1 jun 14	1 mei 16	23 apr 2014		1
2014.III.04.045	positief advies	37	1 apr 17	1 mei 17	23 apr 2014	37	1
2014.III.04.045	positief voor wijziging	37	1 apr 17	1 mei 17	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.045	positief voor wijziging	37	1 apr 17	1 mei 17	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.045	positief voor wijziging	37	1 apr 17	1 mei 17	proefdierdeskundige		1
2014.III.04.046	positief advies	26	1 okt 15	1 mei 16	23 apr 2014		1
2014.III.04.047	aanhouden	33	1 mei 16		23 apr 2014	7, 8, 14, 15 1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw vervolg
2014.III.04.047	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 mei 16		21 mei 2014	7	1
2014.III.04.047	positief advies	33	1 mei 16	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.04.047	positief voor wijziging	33	1 mei 16	1 sep 16	pre		1
2014.III.04.047	positief voor wijziging	33	1 mei 16	1 sep 16	15 dec 2014		1
2014.III.04.048	overname pos. advies DEC ALT	37	nb	1 mei 16	ambtelijk afgehandeld		
2014.III.05.049	aanhouden	37	nb		21 mei 2014	14, 15, 7, 16, 28, 18	1
2014.III.05.049	continuering aanhouden	37	nb		27 aug 2014	7, 14	1
2014.III.05.049	positief advies	37	nb	1 okt 14	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.05.049	positief voor wijziging	37	nb	1 okt 14	proefdierdeskundige		1
2014.III.05.050	intentie positief, ambt. mogelijk	3	30 apr 16		21 mei 2014	25, 16, 15, 26	1
2014.III.05.050	positief advies	3	30 apr 16	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.05.051	positief advies met vr. en opm.	24	1 mei 16	1 jun 16	21 mei 2014	14,18, 37	1
2014.III.05.051	positief advies reeds gege- ven	24	1 mei 16	1 jun 16	18 jun 2014		1
2014.III.05.052	aanhouden	33	1 jun 15		21 mei 2014	7, 8, 39, 15	1
2014.III.05.052	positief advies	33	1 jun 15	1 jan 17	15 dec 2014		1
2014.III.06.053	positief advies met vr. en opm.	nvt	nb	1 jul 16	18 jun 2014	31, 14, 41	1
2014.III.06.053	positief advies reeds gege- ven	nvt	nb	1 jul 16	9 jul 2014		1
2014.III.06.054	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 jan 16		18 jun 2014	7, 14, 19	1
2014.III.06.054	positief advies	33	1 jan 16	1 sep 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.06.054	positief voor wijziging	33	1 jan 16	1 sep 16	proefdierdeskundige		1
2014.III.06.055	intentie positief, ambt. mogelijk	30	31 aug 15		18 jun 2014	31, 14, 15	1
2014.III.06.055	positief advies	30	31 aug 15	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1
2014.III.06.056	positief advies met vr. en opm.	20	1 jul 17	1 jul 17	18 jun 2014	14, 15, 37	1
2014.III.06.056	positief advies reeds gege- ven	20	1 jul 17	1 jul 17	9 jul 2014		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.07.057	intentie positief, ambt. mogelijk		1 aug 17		9 jul 2014	33, 7, 25, 31, 18	1	
2014.III.07.057	pos. adv. met opm. en voorw.		1 aug 17	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld	14, 17	1	
2014.III.07.057	positief advies reeds gegeven		1 aug 17	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.07.057	positief voor wijziging		1 aug 17	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.07.057	positief voor wijziging		1 aug 17	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.07.058	intentie positief, ambt. mogelijk	30	31 dec 14		9 jul 2014	41, 33, 4	1	
2014.III.07.058	positief advies	30	31 dec 14	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.07.059	positief advies met opm.	12	1 okt 14	1 aug 16	9 jul 2014	33, 15, 41	1	
2014.III.07.059	positief advies reeds gegeven	12	1 okt 14	1 aug 16	27 aug 2014		1	
2014.III.07.060	intentie positief, ambt. mogelijk		31 jul 17		9 jul 2014	17, 31, 14	1	
2014.III.07.060	positief advies met voorw. en opm.		31 jul 17	1 aug 17	ambtelijk afgehandeld	2, 37	1	
2014.III.07.061	positief advies met opm.	37	15 jun 14	1 aug 16	9 jul 2014	39, 14, 33	1	
2014.III.07.061	positief advies reeds gegeven	37	15 jun 14	1 aug 16	27 aug 2014		1	
2014.III.07.061	positief voor wijziging	37	15 jun 14	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.07.061	positief voor wijziging	37	15 jun 14	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.07.061	positief voor wijziging	37	15 jun 14	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.07.062	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 dec 15		9 jul 2014	7, 21, 31, 27, 15, 34, 4	1	
2014.III.07.062	positief advies met vr.	37	31 dec 15	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld	14	1	
2014.III.07.062	positief advies reeds gegeven	37	31 dec 15	1 okt 16	22 okt 2014		1	
2014.III.07.063	positief advies met opm.	37	16 sep 17	1 aug 16	9 jul 2014	41	1	
2014.III.07.063	positief advies reeds gegeven	37	16 sep 17	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.07.064	positief advies met opm.	30	nb	1 aug 16	9 jul 2014	10,15,41	1	
2014.III.07.064	positief advies reeds gegeven	30	nb	1 aug 16	27 aug 2014		1	
2014.III.07.065	positief advies met opm.	30	1 dec 14	1 aug 16	9 jul 2014	15, 41, 34, 18	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.07.066	positief advies		1 okt 14	1 aug 16	emailronde		1	
2014.III.07.066	positief voor wijziging		1 okt 14	1 aug 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.07.066	Int.pos.adv. wijz., ambt. mogelijk		1 okt 14	1 aug 16	22 okt 2014	31	1	
2014.III.07.066	positief voor wijziging		1 okt 14	1 aug 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.08.067	positief advies met opm.	10	1 apr 15	1 sep 16	27 aug 2014	7		1
2014.III.08.067	positief advies reeds gegeven	10	1 apr 15	1 sep 16	24 sep 2014			1
2014.III.08.068	positief advies met opm.		1 sep 14	1 sep 17	27 aug 2014	27, 39, 37		1
2014.III.08.068	pos. adv. reeds geg. met opm.		1 sep 14	1 sep 17	24 sep 2014	41		1
2014.III.08.069	pos. adv. met opm. en voorw. 3		1 sep 16	1 sep 16	27 aug 2014	4, 14, 15, 33, 18		1
2014.III.08.069	positief advies reeds gegeven	3	1 sep 16	1 sep 16	24 sep 2014			1
2014.III.08.070	aanhouden	12	1 sep 15		27 aug 2014	14, 26, 31, 15, 26		1
2014.III.08.070	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 sep 15		24 sep 2014	31, 33		1
2014.III.08.070	positief advies	12	1 sep 15	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.08.070	positief voor wijziging	12	1 sep 15	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.08.070	positief voor wijziging	12	1 sep 15	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.08.071	positief advies met vr. en opm.	30	1 sep 16	1 sep 16	27 aug 2014	39, 15, 33, 18		1
2014.III.08.071	positief advies reeds gegeven	30	1 sep 16	1 sep 16	24 sep 2014			1
2014.III.08.072	pos. adv. met opm. en voorw. 12		31 jul 17	1 sep 17	27 aug 2014	14, 27, 41		1
2014.III.08.072	continuering vraag	12	31 jul 17	1 sep 17	22 okt 2014			1
2014.III.08.072	positief advies reeds gegeven	12	31 jul 17	1 sep 17	15 dec 2014			1
2014.III.08.073	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 okt 16		27 aug 2014	31, 18, 20, 37	1	
2014.III.08.073	positief advies	30	1 okt 16	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.08.074	aanh., ambt. mogelijk	12	29 aug 14		27 aug 2014	7, 39, 17		1
2014.III.08.074	positief advies	12	29 aug 14	1 okt 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.08.075	positief advies met opm.	30	1 sep 15	1 sep 16	27 aug 2014	14, 15, 33	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.08.075	continuering vraag	30	1 sep 15	1 sep 16	24 sep 2014	14	1	
2014.III.08.075	positief voor wijziging	30	1 sep 15	1 sep 16	24 sep 2014		1	
2014.III.08.075	positief advies reeds gegeven	30	1 sep 15	1 sep 16	22 okt 2014		1	
2014.III.08.076	positief advies met opm.	30	1 sep 15	1 sep 16	27 aug 2014	15	1	
2014.III.08.076	positief advies reeds gegeven	30	1 sep 15	1 sep 16	24 sep 2014		1	
2014.III.08.077	positief advies met opm. en vr.	37	15 sep 16	1 sep 16	27 aug 2014	4, 14, 15, 33	1	
2014.III.08.077	positief advies reeds gegeven	37	15 sep 16	1 sep 16	24 sep 2014		1	
2014.III.08.078	positief advies met opm. en vr.	33	1 okt 16	1 sep 16	27 aug 2014	41, 14, 33, 37		1
2014.III.08.078	continuering vraag	33	1 okt 16	1 sep 16	24 sep 2014	14		1
2014.III.08.078	positief advies reeds gegeven	33	1 okt 16	1 sep 16	15 dec 2014			1
2014.III.08.079	pos. adv. met opm. en voorw.	3	1 feb 16	1 sep 16	27 aug 2014	27, 14, 38		1
2014.III.08.079	continuering vraag	3	1 feb 16	1 sep 16	24 sep 2014	27,33		1
2014.III.08.079	positief advies reeds gegeven	3	1 feb 16	1 sep 16	19 nov 2014			1
2014.III.09.080	intentie positief, ambt. mogelijk	37	27 feb 15		24 sep 2014	31, 26,14	1	
2014.III.09.080	positief advies	37	27 feb 15	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.09.080	positief voor wijziging	37	27 feb 15	1 nov 16	15 dec 2014		1	
2014.III.09.081	aanhouden	37	31 aug 15		24 sep 2014	14, 39, 27, 8		1
2014.III.09.081	continuering aanhouden	37	31 aug 15		22 okt 2014			1
2014.III.09.081	positief advies met opm.	37	31 aug 15	1 dec 16	19 nov 2014	40, 14, 8, 41		1
2014.III.09.081	positief advies reeds gegeven	37	31 aug 15	1 dec 16	15 dec 2014			1
2014.III.09.082	aanhouden	33	1 nov 15		24 sep 2014	7, 8, 19, 41, 39, 14, 15, 33, 18		
2014.III.09.082	positief advies met opm.	33	1 nov 15	1 dec 16	19 nov 2014	14, 33	1	
2014.III.09.083	intentie positief, ambt. mogelijk	33	30 apr 17		24 sep 2014	14, 39, 31, 18, 41	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.09.083	positief advies	33	30 apr 17	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.09.084	pos. adv. met vr., opm., voorw.	29	26 jan 15	1 okt 16	24 sep 2014	28, 24, 37		1
2014.III.09.084	positief advies reeds gegeven	29	26 jan 15	1 okt 16	19 nov 2014			1
2014.III.09.085	overname pos. adv. DEC KNAW		1 okt 14	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.10.086	positief advies met vr. en opm.	3	31 mei 15	1 nov 16	22 okt 2014	9, 14, 39	1	
2014.III.10.086	positief advies reeds gegeven	3	31 mei 15	1 nov 16	19 nov 2014		1	
2014.III.10.086	positief voor wijziging	3	31 mei 15	1 nov 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.10.086	positief voor wijziging	3	31 mei 15	1 nov 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.10.087	positief advies met opm. en vr.	33	1 okt 16	1 nov 16	22 okt 2014	7, 14, 37		1
2014.III.10.087	positief advies reeds gegeven	33	1 okt 16	1 nov 16	19 nov 2014	18		1
2014.III.10.087	positief voor wijziging	33	1 okt 16	1 nov 16	proefdierdeskundige			1
2014.III.10.087	positief advies reeds gegeven	33	1 okt 16	1 nov 16	15 dec 2014			1
2014.III.10.088	intentie positief, ambt. mogelijk	30	nb		22 okt 2014	9, 27, 31, 14, 3	1	
2014.III.10.088	positief advies met opm.	30	nb	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.10.089	positief advies	33	31 okt 16	1 nov 16	22 okt 2014			1
2014.III.10.090	positief advies met opm.	37	12 sep 17	1 nov 17	22 okt 2014	37		1
2014.III.10.091	aanhouden	33	1 nov 16		22 okt 2014	7, 9, 39, 14	1	
2014.III.10.091	positief advies met opm.	33	1 nov 16	1 dec 16	19 nov 2014	8, 9, 14	1	
2014.III.10.092	positief advies met opm.	12	30 dec 14	1 nov 16	22 okt 2014	15		1
2014.III.10.092	positief advies reeds gegeven	12	30 dec 14	1 nov 16	19 nov 2014			1
2014.III.10.093	aanhouden	33	1 sep 17		22 okt 2014	9, 39	1	
2014.III.10.093	positief advies met opm.	33	1 sep 17	1 dec 16	19 nov 2014	9, 8	1	
2014.III.10.094	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 jan 16		22 okt 2014	39, 33		1
2014.III.10.094	positief advies	30	1 jan 16	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.10.095	overname pos. advies DEC NKI		16 jun 15	1 nov 16	ambtelijk afgehandeld		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.10.096	positief advies met opm.	29	25 okt 14	1 nov 16	22 okt 2014	18		
2014.III.10.096	positief advies reeds gegeven	29	25 okt 14	1 nov 16	19 nov 2014			
2014.III.11.097	intentie positief, ambt. mogelijk	30	31 dec 15		19 nov 2014	41, 7, 39, 14, 33	1	
2014.III.11.097	positief advies	30	31 dec 15	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.11.098	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 mrt 16		19 nov 2014	39, 31, 14, 28, 16, 4		1
2014.III.11.098	positief advies	12	1 mrt 16	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.11.099	positief advies met vr. en opm.		1 dec 17	1 dec 17	19 nov 2014	41, 15, 31, 25		1
2014.III.11.099	positief voor wijziging		1 dec 17	1 dec 17	proefdierdeskundige			1
2014.III.11.100	overname pos. adv. DEC AMC		nb	1 dec 16	ambtelijk afgehandeld		1	
2014.III.11.100	positief voor wijziging		nb	1 dec 16	proefdierdeskundige		1	
2014.III.12.101	positief advies	9	1 dec 17	1 jan 18	15 dec 2014			1
2014.III.12.102	positief advies met opm.	29	30 nov 17	1 jan 18	15 dec 2014	14, 41, 31		1
2014.III.12.103	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 mei 15		15 dec 2014	7, 14, 27, 26		1
2014.III.12.103	positief advies	12	1 mei 15	1 jan 17	ambtelijk afgehandeld			1
2014.III.12.104	positief advies	33	1 jan 17	1 jan 17	15 dec 2014			1
2014.III.12.105	positief advies met opm. en vr.	33	31 dec 16	1 jan 17	15 dec 2014	41, 14, 15, 4		1
2014.III.12.106	positief advies met opm. en vr.	30	1 feb 19	1 jan 17	15 dec 2014	27, 14, 41	1	
2014.III.12.107	positief advies met opm. en vr.	12	31 dec 15	1 jan 17	15 dec 2014	14, 41, 16	1	
2014.III.12.108	positief advies met vr.	37	1 apr 15	1 jan 17	15 dec 2014	14		1
2014.III.12.109	positief advies met opm.	30	31 dec 16	1 jan 17	15 dec 2014	41, 14	1	
2014.III.12.110	positief advies met opm.	30	31 dec 16	1 jan 17	15 dec 2014	41	1	
2014.III.12.111	positief advies met vr.	33	15 dec 16	1 jan 17	15 dec 2014	31, 15	1	
2014.III.12.112	positief advies met opm. en vr.	33	1 jan 18	1 jan 17	15 dec 2014	9, 41, 14	1	
2014.III.12.113	positief advies met opm. en vr.	37	1 apr 16	1 jan 17	15 dec 2014	38, 41, 17, 14, 18	1	
2014.III.12.114	positief advies met vr.	33	31 dec 15	1 jan 17	15 dec 2014	8	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg
2014.III.12.115	positief advies met opm. en vr.	36	1 feb 16	1 jan 17	15 dec 2014	7, 10, 14, 18	1	
2014.III.12.116	positief advies met vr. en opm.	33	1 jan 16	1 jan 17	15 dec 2014	31, 14, 18		1
2014.III.12.117	positief advies met vr. en opm.	33	onbekend	1 jan 17	15 dec 2014	41, 14, 33		1
2014.III.12.118	positief advies met voorw., opm. en vr.	33	15 aug 17	1 jan 17	15 dec 2014	18, 41, 14, 30, 38, 15, 31	1	
2014.III.12.119	positief advies met vr. en opm.	26	14 jun 15	1 jan 17	15 dec 2014	14, 31, 4, 37	1	
2014.III.12.120	positief advies met opm. en vr.	33	1 jan 17	1 jan 17	15 dec 2014	15, 37		1

Jaarverslag 2014
Dierexperimentencommissie Utrecht

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

