

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

Versie 2006

Herziene versie

DECNR: 2011-024

Ontvangen: 18-03-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
29-04-2011	Nieuw / Herz.versie / Pilot

VROM/GGONR³

LNV/CBDNR⁴

Hoofdproject	CARIM	NUTRIM	Hersenen en gedrag	GROW	biomaterialen	Ander UM	Geen UM
--------------	-------	--------	--------------------	------	---------------	----------	---------

Deelproject	1. 2. 3.	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3.	1. 2. 3.			
-------------	----------	-------------	----------	----------	--	--	--

Financieel beheerder	--
----------------------	----

Budgetnummer	30983244 N
--------------	------------

Titel van het onderzoek:

Vaatwand dysfunctie in een uremisch model

startdatum 1-3-2011

einddatum ⁹ 1-3-2013

Duur van de proef¹⁰:

2 mnd

Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM)	E-mailadres	Bevoegdheid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)			Art.9	
2. Vervanger VO (VVO)			Art.9	
3. Verantwoordelijk medewerker (VM) GGO ⁷				
4. overige uitvoerenden			Art. 12	
5.				

Diergroep	1	2	.	.	.	.	.
ctrl/exp/sham	exp	Sham					
Diersoort	rat	Rat					
Stam	Wistar	Wistar					
Construct / mutatie ?	WT	WT					
Herkomst (leverancier) *	CR	CR					
Aantal	36	27					
Geslacht	m/v	m/v					
Dieren immuuncompetent ?	ja	ja					
Leeftijd/gewicht	275-350g	275-350g					
Doel van de proef *	31	31					
Belang van de proef *	01	01					
Toxicologisch onderzoek *	01	01					
Bijzondere technieken *	01	01					
Anesthesie *	04	04					
Pijnbestrijding *	04	04					
Mate ongerief *	05	04					
Toestand dier einde exp*	01	01					

* VHL-coderingen zie bijlage

1. Doel van de proef.

Binnen de onderzoekslijn Vasculaire Biologie aan de Universiteit Maastricht is grote behoefte aan meer inzicht in de vaatwand functie bij nierpatiënten, die een zogenaamde uremische status hebben als gevolg van nierfalen. Het uiteindelijke doel van dit project is het optimaal functioneren van een arterioveneuze (AV) shunt voor dialyse.

In de literatuur is nog weinig bekend over het falen van de veneuze AV-shunts in relatie tot vaatwand dysfunctie door uremie.

In voorgaand onderzoek (DEC 2010-144) dat uitgevoerd is in samenwerking met prof de Mey (FARM) is gebleken dat uremie leidt tot verminderde endotheel (EC) ONafhankelijke gladde spiercel (SMC) relaxatie bij gelijkblijvende endotheel afhankelijke relaxatie. Dit is een onverwacht en ongebruikelijk patroon en heeft geleid tot 2 hypothesen:

1. De gladde spiercel is minder gevoelig voor nitric oxide (NO)
2. Er is een feedback van SMC naar EC om bij deze hyposensitiviteit meer NO of andere relaxantia te maken om te compenseren voor de verminderde NO gevoeligheid.

Het enzym soluble guanylyl cyclase is centraal in de NO geïnduceerde relaxatie van gladde spiercellen. Verminderde gevoeligheid van dit haem bevattende enzym bij bijv oxydatieve stress is beschreven maar de ongevoeligheid van de SMC bij uremie kan ook op andere niveaus zitten zoals de defosforylering van myosin light chain of de Ca^{2+} handling.

De observatie dat de EC afhankelijke relaxatie normaal verloopt suggereert dat EC als het ware compenseert voor de verminderde SMC gevoeligheid.

Om deze signaal weg en de EC compensatie grondig te onderzoeken gaan we in orgaanbad experimenten met bloedvaten uit uremische dieren een farmacologische analyse uitvoeren. Dit gebeurt in samenwerking met de prof de Mey die uitgebreide expertise heeft in deze analyses. Voor dit onderzoek moeten we uremische dieren maken door 5/6 nefrectomie uit te voeren en de bevindingen in deze dieren vergelijken met niet-uremische, gezonde dieren.

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang



Het aantal patiënten met ernstig nierfalen in Nederland bedraagt ongeveer 28.000 en 5800 mensen maken gebruik van dialyse als niervervangende therapie. Daarvan is het grootste deel, 4500, afhankelijk van hemodialyse, met een jaarlijkse stijging van ruim 3%. De wachttijd voor een niertransplantatie bedraagt gemiddeld 4,5 jaar en gedurende deze periode zijn patiënten afhankelijk van dialyse waarbij een goed functionerende vaattoegang essentieel is. De remodellering van de shunt (maturatie) is essentieel voor het goed bruikbaar worden en blijven ervan. Op zijn beurt is maturatie van de shunt afhankelijk van een goed functionerende vaatwand. Beter inzicht in de vaatwand dysfunctie bij patiënten met chronisch nierfalen kan leiden tot therapieën die de vaatwand functie verbeteren. Analoga van de BAY stoffen die in dit onderzoek gebruikt worden zijn al in klinische trials.

3. Alternatieven

Om de vaatwand functie te meten in bloedvaten die langdurig onderhevig zijn geweest aan uremie, is een proefdieropzet in onze ogen noodzakelijk. Een degelijke analyse van vaatwand dysfunctie in een gestandaardiseerde setting is niet uitvoerbaar met humaan materiaal uit de kliniek (elke keer andere vaten, ander achterliggende ziektes die vaatwand functie beïnvloeden). Vermindering van het aantal proefdieren is niet mogelijk op basis van voorgaand onderzoek en het aantal experimenten dat per weefsel kan worden gedaan. De nierfunctie zal alleen gemeten worden via creatininebepaling in het bloed, en er is bewust gekozen om urineverzameling

middels metabole kooien weg te laten.

4. Ethische afweging

In dit experiment worden dieren onder narcose gebracht en wordt nierfalen geïnduceerd door het verwijderen van een gedeelte van het nierweefsel. Het potentiële resultaat van deze studie is inzicht verkrijgen in de vaatwand functie ten behoeve van shunt maturatie.

De hoge morbiditeit geassocieerd met complicaties door AV-shunt falen rechtvaardigt ons inziens deze proeven met een matig/ernstig ongerief voor dieren ruimschoots.

Wetenschap

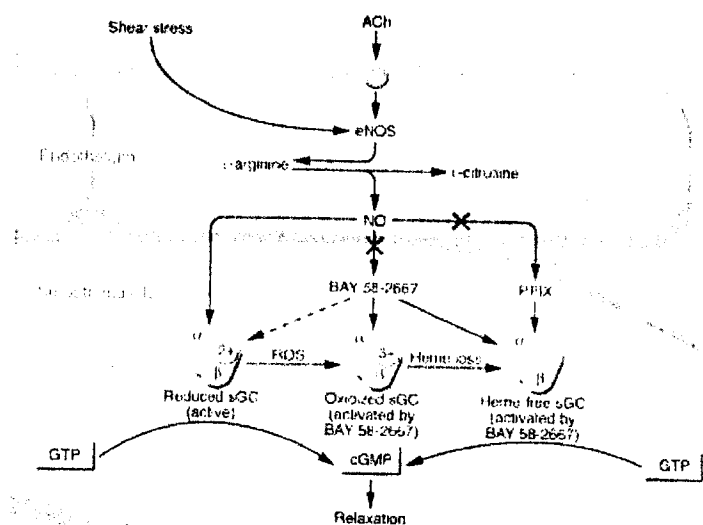
5. Wetenschappelijke onderbouwing

Uit de literatuur is bekend dat bij patiënten met nierfalen sprake is van dysfunctionerend endotheel leidend tot cardiovasculaire complicaties en problemen met AV-shunts, nodig voor hemodialyse. Nierfalen leidt tot een verminderde klaring van diverse circulerende stoffen, waaronder ureum, ADMA en andere toxische stoffen, en daarnaast een verhoogd aanbod van vrije zuurstofradicalen. Deze stoffen kunnen schadelijk zijn voor de cellen aan de binnenkant van de bloedvaten, namelijk endotheelcellen (EC), maar ook voor de dieper gelegen gladde spiercellen (SMC). Endotheel maakt NO dat vaatverwijdende eigenschappen heeft door inductie van relaxatie van de SMC. Dysfunctionerend endotheel zou daarnaast ook een verhoogde trombogeniciteit hebben, wat kan leiden tot trombose van de AV-shunt (Roy-Chaudhury, Kelly et al. 2003). In een eerdere studie (2010-144) hebben we aangetoond dat bij uremie de EC afhankelijke relaxatie (NO gemedieerd) eigenlijk normaal is terwijl juist de EC ONafhankelijke relaxatie (door Nitroprusside) van SMC is verminderd. Deze verminderde gevoeligheid voor NO is beschreven en kan te maken hebben met de redox status van het zogeheten soluble guanylyl cyclase. Dit enzym bevat een haem groep die verloren gaat bij verhoogde oxydatieve stress (zie schema), waardoor het ongevoeliger wordt voor NO.

Er zijn tegenwoordig farmaca voorhanden waarmee het mechanisme van die ongevoeligheid kan worden onderzocht. BAY 60-2770 activeert het geoxydeerde sGC beter terwijl BAY 41-2272 een sterker effect heeft op gereduceerd sGC. Naast de redox status van het sGC kan het signaal pad distaal van cGMP ook verminderd gevoelig zijn. Dit is te onderzoeken door gebruik te maken van 8-bromo-GMP wat een stabiel GMP analogon is dat minder gevoelig is voor afbraak. Als blijkt dat 8 bromo-GMP een normale relaxatie geeft in uremische vaten, zit de stoornis dus in het deel van de signaal weg die proximaal van cGMP zit en worden bovenbeschreven mechanismen onderzocht. De oxydatieve stress kan worden opgeheven of de activatie van sGC kan worden geïnduceerd door de BAY stoffen. Het in het schema opgenomen BAY 58-2667 is inmiddels in klinische studie.

Het feit dat de endotheel afhankelijk relaxatie normaal is kan duiden op een compensatie mechanisme door endotheel. Dit zal worden onderzocht door de enzym activatie die zorgt voor NO (eNOS) verder te bestuderen met moleculaire en farmacologische methoden.

Het onderzoek wordt uitgevoerd in bloedvaten van uremische dieren, waar we ook de oorspronkelijke waarneming in hebben gedaan.



6. Wetenschappelijke beoordeling

De beschreven experimenten zijn onderdeel van een _____ programma. Dit DEC-protocol is wetenschappelijk beoordeeld door _____

Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Volwassen Wistar ratten (275-350gr) worden gebruikt voor dit onderzoek. Wij hebben voor deze soort en stam gekozen vanwege eerdere resultaten in de literatuur en eigen ervaring met deze stam. De dieren zijn afkomstig van Harlan. Na afloop van het experiment wordt het dier opgeofferd middels verbloeding onder anesthesie, waarna cellen geïsoleerd worden en weefsel zal worden afgenomen voor verdere analyse.

7b. Sexe

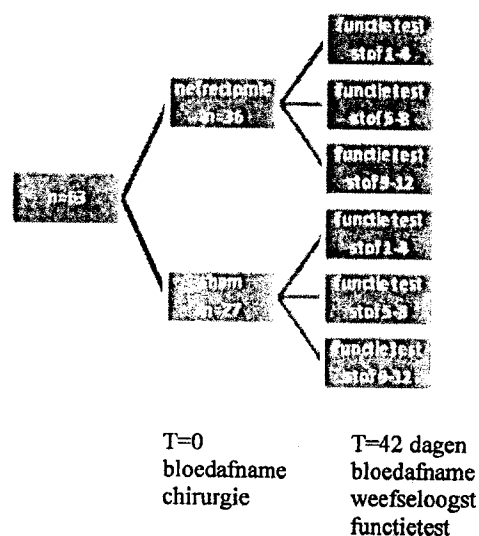
We zullen dieren van beide geslachten gebruiken in gelijke hoeveelheden in elke groep

7c. Aantallen

De experimenten zijn orgaanbad experimenten waarvan er 4 (2 duplo's) tegelijkertijd gedaan kunnen worden en per dier 8, dus in totaal 4 te testen stoffen. Er worden dosis response curven gemaakt en de DRCs worden met elkaar vergeleken met een repeated measures of variance analyse. De power berekening hiervan is niet goed mogelijk. De ervaring (groep prof de Mey) leert dat $n=8$ waarnemingen per dosis en per stof voldoende discriminerend vermogen heeft. De uitval van de nefrectomie gedurende 2010-144 (op basis van 54 dieren) was 30%, dat wil zeggen dat we per 4 te testen stoffen voor $n=8$ waarnemingen $n=12$ dieren nodig hebben in de uremische groepen. De controle dieren ondergaan een sham operatie met een te verwachten uitval van 5%, dus $n=9$ per groep. Van contralaterale vaten worden samples genomen die, al of niet na stimulatie, moleculair en biochemisch worden ge-analyseerd.

In totaal worden er 12 stoffen getest: 8-bromo-GMP, PDE remmer, 2 BAY stoffen, nitroprusside, NO donor, Acetylcholine, 2 ROS remmers, l-arginine, PI3 remmer, MYPT1 remmer.

Voor elke stof wordt vergeleken tussen vaten uit uremische en sham geopereerde dieren.



Er zijn dus $3 \times 12 = 36$ uremische dieren nodig en $3 \times 9 = 27$ controle dieren.
Dit zijn in totaal 63 ratten.

De uitval van 35% is hoog maar is direct gerelateerd aan de nierinsufficiëntie. Er is geprobeerd om een mildere nefrectomie uit te voeren, maar dit leidt tot onvoorspelbare regeneratie van nierfunctie en een uiteindelijk onbruikbaar model. We zijn daarom genoodzaakt de huidige procedure te handhaven.

Dierproef

8. Experiment

Nierfalen zal worden geïnduceerd door middel van een 5/6 nefrectomie in een rat, een model dat sinds de jaren '70 gebruikt wordt om chronisch nierfalen in patiënten na te bootsen. Als controle groep zullen sham-operated ratten worden genomen, die i.p.v. een nefrectomie alleen verwijdering van vetweefsel rondom de nieren zullen ondergaan.

Om de mate van nierfalen te evalueren zullen op $t=0$ en $t=42$ bloedsamples afgenomen worden om creatinine en daarmee de nierfunctie te bepalen. Aangezien nierfalen een verhoogde bloeddruk veroorzaakt, zal de bloeddruk ook op $t=0$ en $t=42$ gemeten worden. Beide parameters zijn de optimale maten van nierfunctie stoornis. In een eerdere studie hebben we bloeddruk en creatinine ook nog op tijdstip 14 dagen gemeten, maar dit levert geen extra informatie op en veroorzaakt nodeloos stress voor de dieren.

Na euthanasie zullen de beide carotiden verwijderd worden voor farmacologisch onderzoek in het lab van prof de Mey.

Van elke carotide wordt 1 cm gebruikt voor de myograaf experimenten. In deze experimenten kan nauwkeurig de response op bovenstaande stimuli worden getest. De rest van de carotide wordt gebruikt voor moleculaire en biochemische bepalingen die verder inzicht kunnen verschaffen in het mechanisme van sGC resistentie. Afhankelijk van de resultaten betreft dit verdere analyse van de processen downstream van GMP, zoals PI3 kinase, MLC fosforylering, MYPT1 activatie e.d. en zullen markers van endotheel activatie worden onderzocht om een eventuele compensatie door endotheel aan te tonen.

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

Sedatie en narcose dmv 0,01 mg/kg Temgesic s.c. (15-30 minuten voor de ingreep) en 3-4 % isofluraan om het dier onder narcose te brengen en 2-2,5% isofluraan tijdens de ingrepen.

9b. Pijnbestrijding

Voor post-operatieve pijnbestrijding wordt buprenorfine (Temgesic; 0,01 mg/kg subcutaan, langwerkend) direct na de operatie toegediend. De eerste 3 dagen post-op zullen de dieren Temgesic in dezelfde dosis s.c. krijgen.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

Na afloop van het experiment wordt het dier opgeofferd door middel van verbloeden onder narcose.

De dieren zullen voortijdig ge-euthanaseerd worden met indien er sprake is van een volledige nierinsufficiëntie, hetgeen kan optreden als het laatste deel van de linkernier door onvoorziene omstandigheden ook uitvalt. Symptomen hiervan zijn: Gegeneraliseerde afname in zelfverzorging en abnormale verschijning over een lange periode, optreden van ruwe haarvacht en alopecia. Apathisch gedrag. Symptomen van jeuk (veelvuldig krabben). Acuut gewichtsverlies (binnen een

periode van 7 dagen) van meer dan 20%. Met name tijdens de post-operatieve periode bestaat het risico hierop. In deze fase is het creatinine gehalte in het serum nog geen goede indicatie van het nierfalen, omdat het nog niet voldoende gestabiliseerd is (door spierschade tijdens operatie, en door cumulatietijd van creatinine bij nierfalen)

Zorg

10a. Ongerief



Fase 1. Validatie van nierfalen en endotheel dysfunctie

- | | |
|--|--------------|
| • Pre-operatief, voorbereiding: toediening pijnbestrijding subcutaan | Ongerief: 02 |
| • Operatie: - Algehele Anesthesie | |
| o 5/6 ^e nefrectomie (t=0) | Ongerief: 04 |
| • Post-operatief, (met pijnmedicatie) | Ongerief: 04 |
| • Leven met nierfalen | Ongerief: 05 |
| • Terminaal experiment ten behoeve van isolatie vaatjes op dag 42 | Ongerief: 02 |
| Handelingen geschieden onder algehele narcose, euthanasie dier | Ongerief: 02 |

10b. Welzijnsevaluatie

Post-operatief zullen de dieren de eerste week dagelijks worden gecontroleerd en worden gewogen. Er zal tevens een welzijnslogboek worden bijgehouden.

De 5/6^e nefrectomie is een relatief nieuwe techniek op de Universiteit Maastricht, waar de art. 12 functionaris in al ruime ervaring mee heeft opgedaan (n= 56 operaties). Daarbij werd het gewicht gecontroleerd om het welzijn van de dieren en de mate van nierfalen te evalueren. Daarnaast werd zelfverzorging van de dieren en kleur van de urine in de gaten gehouden. Wij hebben tevens geïnformeerd in Groningen naar de recente praktische ervaringen en naar hun zeggen kunnen dieren met nierfalen in ieder geval 16 weken overleven zonder ernstig ongerief.

11. Verzorging en huisvesting

De dieren worden verzorgd door CPV medewerkers en gehuisvest in de ruimtes van het CPV. Tijdens de experimenten en bij het wakker worden van het dier is steeds minimaal één van de vermelde onderzoekers bij de dieren aanwezig, om toe te zien op de toestand van het dier. In geval van calamiteiten kan de artikel 12 worden verwittigd. Indien deze niet voorhanden is zullen de andere betrokken onderzoekers worden benaderd. Voor en na de ingreep kunnen de dieren sociaal gehuisvest worden. Indien dit postoperatief problemen in verband met aanwezige wond zal postoperatief worden overgestapt op individuele huisvesting. Standaardvoeding en drinkwater wordt ad libitum aangeboden.

12. Deskundigheid

De VO is art. 9 functionaris en heeft 20 jaar ervaring in het werken met diverse vasculaire diersmodellen in muizen, ratten, konijnen en varkens. De VVO is AIO bij CARIM is art 9 functionaris. Hij zal onder supervisie van de Art 12 functionaris werken totdat blijkt dat hij zelfstandig diereperimenten (weefseloogst) kan uitvoeren. De art 12 functionaris heeft jarenlange ervaring met microchirurgie in muizen en ratten en heeft alle nefrectomieën van protocol 2010-144 uitgevoerd en zal ook voor dit protocol de nefrectomieën uitvoeren.

13. Standard Operation Procedures (SOP)

SOP Anesthesie van de rat

Sedatie en narcose dmv 0,01 mg/kg Temgesic s.c. (15-30 minuten voor de ingreep) en 3-4 %

isofluraan om het dier onder narcose te brengen en 2-2,5% isofluraan tijdens de ingrepen. Ingrepen worden gestart na negatieve reactie op pijnprikkel zoals voetzool-en ooglidreflex , een rustige ademhaling en hartslag.

SOP 5/6 nefrectomie

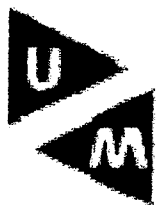
Zie SOP CPV-2-R

Relevante literatuur

Surks HK. cGMP-dependent protein kinase I and smooth muscle relaxation: a tale of two isoforms. *Circulation research*. 2007;101(11):1078-1080.

Jones AW, Durante W, Korthuis RJ. Heme oxygenase-1 deficiency leads to alteration of soluble guanylate cyclase redox regulation. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 335(1):85-91.

Gladwin MT. Deconstructing endothelial dysfunction: soluble guanylyl cyclase oxidation and the NO resistance syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(9):2330-2332.



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine

and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

p/a Secretariaat DEC-UM

Postbus 616

NL-6200 MD Maastricht

Telefoon:

Uw referentie:

Onze referentie :

Maastricht, 01-03-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Vaatwand dysfunctie in een uremisch model*", is op de DEC vergadering van 25 februari 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

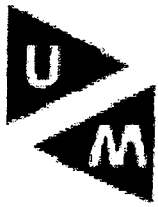
- De DEC vraagt zich af of voor het gekozen 5/6 nefrectomie model, geen andere alternatieven voor handen zijn, zoals adenine geïnduceerde nefropathie. Dit om de hoge uitval, ten gevolge van de chirurgie en het daarmee gepaard gaande ongerief, te reduceren.
- Bij punt 8 verzoekt de DEC een flowchart toe te voegen.
- Bij punt 9c verzoekt de DEC het woordje "met" in de 3^e regel, te verwijderen.

Gelieve eventuele vragen te beantwoorden in **een brief en indien noodzakelijk Uw project aan te passen en duidelijk de aanpassingen grijs te markeren.**

Uw project staat bij de DEC geregistreerd onder nummer **2011-024**, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM



Aan: _____, voorzitter
p/a Secretariaat DEC-UM
Postbus 616
NL-6200 MD Maastricht Telefoon: _____

Geachte leden van de DEC,

Onze projectaanvraag: "*Vaatwand dysfunctie in een uremisch model*", is op de DEC vergadering van 25 februari 2011 besproken en u heeft de volgende kantekeningen geplaatst waarop ik hieronder punt voor punt inga (antwoord schuin gedrukt).

- De DEC vraagt zich af of voor het gekozen 5/6 nefrectomie model, geen andere alternatieven voor handen zijn, zoals adenine geïnduceerde nefropathie. Dit om de hoge uitval, ten gevolge van de chirurgie en het daarmee gepaard gaande ongerief, te reduceren.

De adenine geïnduceerde nefropathie is inderdaad een veel gebruikt model om nierfalen te induceren. Adenine geeft een gegeneraliseerde vaatwand schade die gepaard gaat met verkalking van de vaatwand. Het nierfalen zelf is vrij ernstig (verviervoudiging van het creatinine gehalte tegenover een ruime verdubbeling in "ons" model). In de adenine behandelde dieren wordt een gewichtsverlies tot 20% gerapporteerd. Uitval is moeilijk te achterhalen omdat dit doorgaans niet wordt vermeld. Naast deze onzekerheid of dit model wel leidt tot vermindering van de uitval zijn onze grootste problemen:

- 1. De experimenten die in dit protocol worden beschreven zijn gericht op een waarneming die we in de vaatwand van dieren met een 5/6 nefrectomie hebben gedaan. Het is een risico om in dit stadium van model te veranderen en het zou kunnen leiden tot een flink aantal onnodige experimenten als dezelfde waarneming niet in het nieuwe model kan worden gereproduceerd.*
- 2. De specifieke waarneming tijdens de studie onder protocol 2010-144 betreft een veranderde vaatwand functie. Doordat adenine gegeneraliseerd de vaatwand beschadigt ligt het zeer voor de hand dat de eerdere waarnemingen niet worden gereproduceerd in het adenine model terwijl ze wel specifiek kunnen zijn voor nierfalen.*

Overigens is gebleken dat bij de berekening van de uitval in de experimenten onder protocol 2010-144, 2 dieren zijn meegeteld waarvan de uitval niet gerelateerd was aan het nefrectomie model, zodat de gecorrigeerde schatting 30% is ipv 35%. Hiermee neemt de groepsgrootte in de nefrectomie groepen af van 13 naar 12. Dit is gecorrigeerd in de nieuwe versie en op het voorblad.

- Bij punt 8 verzoekt de DEC een flowchart toe te voegen.

Ofschoon dit een heel eenvoudig experiment is, is er een flow chart toegevoegd

- Bij punt 9c verzoekt de DEC het woordje "met" in de 3^e regel, te verwijderen.

Is gebeurd

Ik hoop hiermee voldoende informatie te hebben verschaft. Gelieve de aanpassingen in grijs aan te treffen in het gereviseerde voorblad en het gereviseerde protocol.

Met vriendelijke groet,

Aan:

*Ons kenmerk**Doorkiesnummer*
043-3881108*Maastricht*
02-05-2011**Project:** *Vaatwand dysfunctie in een uremisch model.*DEC-UM
Voorzitter DEC-UM**Verantwoordelijk onderzoeker (VO):** M. Post

p/a secretariaat DEC-UM

Hierbij delen wij U mede dat voornoemd project aan de ethische toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.

Secretariaat DEC-UM
T (043)

De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals aangevraagd en geeft een positief advies met de opmerking, dat de DEC het op prijs stelt dat de gemaakte opmerkingen in het vervolg correct worden uitgevoerd (betreft de laatste 2 opmerkingen).

Bezoekadres**Postadres**
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Projectnummer: 2011-024
Diersoort: rat
Aantal dieren: 63
Einddatum: 29-04-2015

Uw project staat bij de DEC en CPV geregistreerd onder bovenstaand nummer. Gelieve dieren, die voor dit project bestemd zijn, ook onder dit nummer aan te vragen.

.....
Voorzitter DEC-UM

Vice-Voorzitter DEC-UM