

Dierexperimentencommissie Academisch Biomedisch Cluster
FACULTEITEN FARMACIE, BIOLOGIE, SCHEIKUNDE

Gelieve onderstaande vragen zo volledig mogelijk te beantwoorden en s.v.p. aankruisen wat van toepassing is. Onvolledigheid of onduidelijkheid kan leiden tot vertraging in de toetsingsprocedure. Voor elk project s.v.p. een volledig formulier (A + B + C) invullen. Deel C dient voor elke experimentele procedure apart ingevuld te worden (zodanig kopiëren).

Aantal toegevoegde C-formulieren: 3

Indien u proefdieren bij het GDL bestelt, dient een apart GDL-aanmeldingsformulier te worden ingevuld en bij het GDL te worden ingeleverd.

Het aanmeldingsformulier dient uiterlijk 12 dagen voor de eerstvolgende DEC vergadering te worden ingeleverd bij:

Secretariaat van de DEC FSB
T.a.v. Ambtelijk Secretaris
Huispostnummer D01.343
Heidelberglaan 100
3584 CG UTRECHT
dec-dgkfsb@med.uu.nl

Voor de afwikkeling van de ethische toetsingsprocedure, dient u rekening te houden met een tijdsduur van 1 à 2 maanden.
Voor toelichting zie website

Niet invullen door aanvrager

Datum binnenkomst: _____

Datum behandeling: _____

Vergaderstuk nr: _____

DEC nr: _____

05/269

=

2007.I.01.005

DEEL A: GEGEVENS ONDERZOEKSPROJECT:

1. a. Titel van het onderzoeksprogramma: The Evolution of Spatial Abstraction and Categorization
 - b. Titel van deze studie:
(uniek, betreft uitsluitend de hieronder aangemelde dierproeven!) Spatial abstraction in macaque prefrontal cortex
 - c. Disciplinegroep: Ethologie
 - d. Afdeling: _____
 - e. Projectleider:
(Eindverantwoordelijke) _____
 - f. Onderzoeker (met art.9 status):
(Direct verantwoordelijke) _____
 - g. Adres onderzoeker: _____
Telefoonnr.: _____ E-mail adres: _____
 - h. Aanvang project: 01/01/2006 Einde project: 31/12/2010
2. a Deze aanvraag betreft (zie zonodig website voor toelichting):
 - ☐ een nieuwe aanvraag
 - ☐ een onderzoeksproject dat langer dan 5 jaren loopt en daarom als volledig nieuwe aanvraag wordt ingediend.
 - ☐ een vervolgaanvraag
 - ☒ een herhaalde aanvraag: ☒ ongewijzigd ☐ gering gewijzigdBij een vervolgaanvraag, herhaalde of gewijzigde aanvraag vermelden: DEC-nummer: 05/269
GDL reg.nr.: 40032

- b. Geef hieronder duidelijk aan welke wijzigingen zijn aangebracht t.o.v. de eerdere aanvraag, indien van toepassing.

3. Overige medewerkers betrokken bij handelingen aan proefdieren:

onderzoekers	(art. 9 bevoegd)	Zie begeleidende brief
diervorzorger/biotechnici GDL	(art. 12 bevoegd)	Zie begeleidende brief
stagiaires, studenten	(zonder bevoegdheid)	n.v.t
anderen	functie of bevoegdheid:	n.v.t

4. Het betreft hier onderzoek uit de:

- ☒ 1e geldstroom;
☒ 2e geldstroom; via: NWO Evolutie en Gedrag, UU High Potential Programme
☐ 3e geldstroom; via:
☐ 4e geldstroom; via:

Indien het een commercieel gesponsord onderzoek betreft, dat wordt uitgevoerd door een onderzoeker met een dienstverband met de Universiteit Utrecht, dient ook het formulier 'Interne doorbelasting FSB' ingevuld en meegezonden te worden. U kunt dit formulier vinden op de website (www.dec.uu.nl) onder 'formulieren FSB'. Zonder dit formulier wordt uw aanvraag niet in behandeling genomen.

5. **Korte omschrijving van vraagstelling, doel en belang van het onderzoek, mede in het licht van het voorgestelde proefdiergebruik en in relatie tot voorgaande bevindingen in het onderzoekstraject:**

Achtergrond:

Het onderzoeksprogramma is bedoeld om te ontdekken hoe spatiele relaties (bv. links, rechts, boven, onder) in de hersenen zijn gecodeerd. Binnen het programma worden verschillende neurofysiologische methoden gebruikt op verschillende niveaus bij proefpersonen, patienten en niet humane primaten.

Zie meer uitgebreide achtergrondinformatie in het onderzoeksvoorstel dat reeds bij U in het bezit is.

Doel/Hypothese:

We zullen eerst met non-invasieve fMRI technieken bij makaken bepalen welke hersengebieden betrokken zijn bij spatueel werkgeheugen taken. Het is met name het doel die gebieden te vinden die betrokken zijn bij het abstraheren en categoriseren van spatiele informatie. In deze gebieden zullen we vervolgens neuronen afleiden om het mechanisme van spatueel werkgeheugen verder te bestuderen.

Een hypothese die we willen testen is of het abstraheren en categoriseren van spatiele informatie in de evolutie een precursor is geweest van taalverwerving. Bij de mens wordt taal met name in de rechter hersenhelft verwerkt. Met de fMRI experimenten bij makaken kunnen we testen of een dergelijke lateralisatie ook aanwezig is bij het verwerken van spatiele informatie bij makaken. Dit zou er op kunnen wijzen dat taal is ontstaan uit mechanismen die betrokken zijn bij het verwerken van spatiele informatie.

Belang:

wetenschappelijk: De kennis die verkregen wordt uit dit onderzoek heeft in eerste instantie een fundamenteel wetenschappelijk belang. Het levert basale kennis over werkgeheugen en mechanismen en codering van spatiele informatie in de hersenen. Het onderzoek is direct gerelateerd aan EEG en fMRI metingen bij mensen en patiënten waarbij het spatueel werkgeheugen is gestoord. We zullen de dieren exact dezelfde taken laten leren als de humane proefpersonen. Het wetenschappelijk belang zit dus ook in het direct kunnen vergelijken van mens en dier en daarmee het koppelen van single cell activiteit met hersenactiviteit bij mensen. Hiermee proberen we meer te weten te komen over gestoorde hersenprocessen bij patiënten.

maatschappelijk: Het betreft hier fundamenteel wetenschappelijk onderzoek, zonder verwachte directe maatschappelijk toepassing op korte termijn. Uiteindelijk zou dit onderzoek wel kunnen leiden tot therapieën van patiënten waar het spatueel werkgeheugen of taalprocessen zijn verstoord.

6. Hoe heeft de beoordeling van de wetenschappelijke kwaliteit van het onderzoeksproject plaatsgevonden?

- ☐ Facultaire wetenschapscommissie
- ☐ Bestuur onderzoeksschool
- ☐ Bestuur disciplinegroep
- ☐ Projectleider
- ☒ anders, nl: NWO Evolutie en Gedrag, UU High Potential

7. Indien elektronisch aangeleverd:

- ☒ Hiermee verklaart indiener dat de projectleider [REDACTED] kennis heeft genomen van en akkoord gaat met de inhoud van deze aanvraag.

8. Handtekeningen:

Projectleider:

[REDACTED]

Datum:
20 dec 2006

Onderzoeker/art.9. functionaris:
idem

Datum:

DEEL B: GEGEVENS PROEFDIEREN

1. Hoeveel dieren heeft u voor deze studie in de afgelopen twaalf maanden aangevraagd (s.v.p. gebruik per diersoort aangeven)?
2 dieren.

Hoeveel dieren heeft u daadwerkelijk gebruikt (s.v.p. gebruik per diersoort aangeven)? Verklaar een eventuele afwijking tussen aantal aangevraagd en aantal gebruikt.
n.v.t.

2. Aantal te gebruiken dieren per soort/stam in de komende twaalf maanden.

Diersoort/stam	Aantal	Herkomst
1. Macaca Mulatta	2	☐ GDL / ☒ elders, nl. Reeds bij ons aanwezig
2.		☐ GDL / ☐ elders, nl.
3.		☐ GDL / ☐ elders, nl.
4.		☐ GDL / ☐ elders, nl.
5.		☐ GDL / ☐ elders, nl.
6.		☐ GDL / ☐ elders, nl.

3. Worden surplusdieren gebruikt?

Diersoort/stam

1 2 3 4 5 6

☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ja

☒ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ nee, omdat

Het betreft dieren die reeds in soortgelijke proeven binnen de onderzoeksgroep gebruikt worden.

4. a. Waar worden de dieren gehuisvest?

Diersoort/stam

1 2 3 4 5 6

☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ GDL

☒ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ elders, te weten: Binnen de vakgroep

b. Hoe worden de dieren gehulsvest?

Diersoort/stam	Alleen/ groeps- verband	Bedding	Kool verrijking	Type koolverrijking
1.	groep	ja	ja	zaagsel, diverse veilige klim en speel-attributen, tv/radio
2.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
3.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
4.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
5.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
6.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	

c. Indien van toepassing, motiveer waarom dieren solitair en/of zonder bedding en/of koolverrijking worden gehulsvest.

d. Worden de dieren tijdens het experiment verplaatst naar andere ruimte(n)?

☒ ja ☐ nee.

Zo ja, waarheen en hoe lang?

Diersoort/stam	Locatie	Tijdsduur
1.	de belendende ruimte	1-3 uur
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		

5. Wat is de bestemming van de dieren na afloop van het experiment?

Diersoort/stam

1 2 3 4 5 6

☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ euthanasie, methode:

☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ retour GDL

☒ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ anderszins, te weten:

De dieren worden zo lang mogelijk gebruikt (5 jaar of langer).
Gezien nieuwe scan-technieken is euthanasie niet altijd noodzakelijk

6. Geef een korte argumentatie waarom de vraagstelling niet met minder dieren of anders dan d.m.v. dierproeven (bijvoorbeeld m.b.v. celkweek, computermodellen, etc.) beantwoord kan worden.

De enige manier om vragen mb.t. de neuronale basis van hogere cognitieve functies te beantwoorden is middels direct onderzoek aan een werkend brein. Celkweek- of in vitro preparaten zijn hiertoe ongeschikt, omdat de relatie met het gedrag dan niet kan worden bepaald. Computermodellen zullen in ons onderzoek gebruikt worden om de experimentele resultaten te beschrijven, en te interpreteren, en om zinvolle nieuwe experimenten te plannen. Modellen kunnen echter de experimenten nooit vervangen omdat de informatie die nodig is om computermodellen te ontwikkelen afkomstig is uit electrofysiologische experimenten zoals voorgesteld in deze aanvraag. Er zijn verschillende niet-invasieve technieken die bij zowel proefdieren, proefpersonen als patiënten gebruikt zullen worden om hersenactiviteit te meten, bijvoorbeeld via electrodes op de schedel ('evoked potentials' EEG) of scan-technieken zoals 'functional Magnetic Resonance Imaging' (fMRI) en bij epilepsie-patiënten 'electrode-matjes' op de cortex. Deze technieken worden volopgebruikt binnen het onderzoeksprogramma. Echter, deze technieken zijn ongeschikt voor het beantwoorden van alle vragen uit ons onderzoek. Naast allerlei praktische problemen, hebben ze als belangrijkste nadeel dat alleen grote groepen neuronen tegelijkertijd bemeten kunnen worden. Voor vraagstukken betreffende de neurale interacties tussen verschillende cellen is kennis over de modulatie van activiteit op msec niveau van afzonderlijke neuronen of kleine groepen neuronen van het grootste belang.

7. Geef een motivering van de keuze van de diersoorten en stammen.

Er zijn verschillende belangrijke redenen om voor deze experimenten rhesus-aperen te gebruiken. Allereerst wordt internationaal het meest gebruik gemaakt van apen bij studies van perceptie en cognitie. De grote hoeveelheid achtergrondinformatie die voor dit model-proefdier beschikbaar is, maakt apen uitermate geschikt voor het formuleren en testen van hypothesen over corticale functies. Daarnaast, zijn apen ook veruit het meest geschikt voor onze specifieke vraagstelling. Ze wennen snel aan de procedures (bijv. hanteren en langere tijd stilzitten) en zijn gemotiveerd en slim genoeg om complexe taken te leren. Bijvoorbeeld muizen/ratten en katten zouden gezien de complexiteit van de taken niet geschikt zijn voor dit onderzoek. Tenslotte staan apen evolutionair gezien dicht bij de mens, zodat het zinvol is om onze resultaten te vergelijken met psychofysische, EEG en fMRI gegevens bij proefpersonen en patiënten. Artikelen in gerenomeerde tijdschriften met dit type onderzoek zijn meestal gebaseerd op metingen bij 2 of 3 dieren. Het lage aantal proefdieren wordt internationaal geaccepteerd, gezien de diersoort en de enorme tijdsinvestering die gedaan moet worden om de dieren te trainen. Het trainen kan, afhankelijk van de taak, enkele maanden tot meer dan een jaar duren. Meestal volstaat 2 dieren, en alleen bij grote essentiële verschillen in resultaten wordt er bij een derde proefdier gemeten. De dieren worden ook bij andere gelijksoortige projecten gebruikt. Het gebruik van wakkere dieren geeft dus een aanzienlijke vermindering van het aantal benodigde proefdieren ten opzichte van acute experimenten.

8. Welke methodologische maatregelen (proefopzet, statistiek) worden er genomen om het aantal dieren (zowel het aantal groepen als het aantal dieren per proefgroep) te berekenen en te beperken? Motiveer uw antwoord met uitkomsten van berekeningen (bijvoorbeeld power analyse) en een gedetailleerde methodologische opzet.

Per project worden 50 tot 200 neuronen of groepen neuronen per dier gemeten. Het exacte aantal is van tevoren moeilijk te bepalen omdat het afhangt van de kwaliteit en variabiliteit van de gemeten responsies en de grootte van het experimentele effect. Het is te verwachten dat het aantal te meten neuronen toeneemt naarmate de complexiteit van het cortexgebied waar gemeten wordt toeneemt. De uiteindelijke beslissing hoeveel neuronen er gemeten worden, zal afhangen van diverse statistische analyses van de data.

We zullen de apen o.a. trainen voor een werkgeheugentaak. Dezelfde dieren kunnen echter ook voor andere (sub)projecten worden gebruikt en zullen minstens 3-5 jaar aan experimenten meedoen. De experimentele opzet voor het genereren van de stimuli, het controleren van het gedrag en het inlezen en analyseren van neurale elektrische activiteit is geheel geautomatiseerd. Al deze procedures resulteren in een optimaal gebruik van de tijd zodat uiteindelijk minder dieren gebruikt hoeven te worden en er minder proeven per dier nodig zijn.

9. a. Betreft de aanvraag onderzoek met genetisch gemodificeerde dieren?

☐ ja ☒ nee.

Indien met 'ja' beantwoord:

- b. Betreft het een aanvraag voor het vervaardigen van genetisch gemodificeerde dieren?

☐ ja ☒ nee.

Zo ja: vermeld nummer vergunning LNV:

- c. Worden genetisch gemodificeerde dieren betrokken van buiten de instelling?

☐ ja ☒ nee.

Zo ja, wie is de leverancier:

DEEL C: OMSCHRIJVING DIERPROEF

Per diersoort en per procedure DEEL C apart beantwoorden en doornummeren. Dit is exemplaar 1. Onderstaande vragen voor elke experimentele procedure per onderwijselement apart beantwoorden (indien nodig dit deel van het formulier kopiëren).

Naam onderzoeker

Afdeling

Titel van deze studie: The Evolution of Spatial Abstraction and Categorization

Indien bekend:

DEC nr

05/269

Graag protocol/werkplan/behandelschema bijvoegen!

Het is belangrijk om de proefopzet zodanig te beschrijven dat het duidelijk wordt hoe met de gekozen proefopzet de vraagstelling(en) kan(kunnen) worden beantwoord en welke rol de verschillende experimentele groepen daarbij spelen. Vermeld hierbij in elk geval:

- de structuur van het experiment
- experimentele condities (onafhankelijke variabelen) per proefgroep
- de te meten parameters (afhankelijke variabelen) per proefgroep
- de benodigde aantallen proefdieren per proefgroep (inclusief de extra aantallen die men nodig denkt te hebben i.v.m. eventuele verliezen/uitval)

1. Diersoort: Macaca Mulatta
Aantal dieren: 2

2. a. Geef puntsgewijze omschrijving van de experimentele procedure (nummers) waaraan de dieren worden onderworpen. Vermeld hierbij tevens frequentie, klinische effecten etc. aard, duur ingreep en, indien van toepassing, lengte van de interval tussen de ingrepen.

Zie bijlage

- b. Worden er binnen de procedure farmaca (anders dan pijnstillers) gebruikt? Ja ☐ / ☒ Nee
Zo ja, geef aard, wijze, frequentie en plaats van toediening en dosering aan en mogelijke bijwerkingen.

3. a **Schatting van het ongerief dat als gevolg van het experiment bij de dieren optreedt per handeling en per bijbehorend interval.**

Gebruik uw opsomming uit vraag 2a als basis maar beschrijf niet alleen ongerief dat wordt veroorzaakt door de handeling zelf maar ook ongerief dat op termijn kan ontstaan als gevolg van die handeling.

Procedure			Ongerief	
Nr.	Duur procedure/ duur gevolg	Frequentie	Beschrijving van het ongerief tijdens en ten gevolge van de procedure	Inschatting
1	/5dg max	5dg/week max	waterrescheduling	gering/matig
2	2 uur/.	5x/week max	Hoofdstabilisatie	gering/matig
3	3 uur/2dg	eenmalig (eventueel na enkele jaren herhaal(d))	Ontwaken uit narcose	matig
4	10 min/.	minimaal 2x per week	schoonmaken chronisch implantaat	gering
5	/.	max 5x/week	inbrengen geleidingsbuisje	gering
7	30 min/.	minimaal 1x/jaar	lichte ketamine verdoving ten behoeve van gezondheidscheck door dierenarts (bloedafname, palpatie e.d.) Daarna Antisedan	gering/matig

b. **Duur gehele experiment** enkele jaren

Inschatting ongerief gehele experiment. matig

c. **Specificeer de klinische effecten in geval van (zeer) ernstig ongerief:**

n.v.t.

4. a. Wordt anesthesie toegepast?

- ☒ ja, nl.: eenmalige operatie (eventueel wordt deze operatie na enkele jaren herhaald)
- in welke vorm: Ketamine/domitor inductie, onderhoud op Lachgas/Zuurstof, Isofluraan
- hoe lang: ong. 3 uur
- met welke intervallen: n.v.t.

☐ nee, omdat:

b. Wordt pijnbestrijding toegepast?

- ☐ peri-operatief ☐ post-operatief ☐ beide

nl.: Temgesic en op indicatie een NSAID.

in welke vorm: Temgesic i.m.

hoe lang: 3-5 dagen

met welke intervallen: 3x per dag

☐ nee, omdat:

c. Worden andere methoden gebruikt om het ongerief voor de proefdieren zo veel mogelijk te beperken?

- ☒ ja, nl.: Minimaliseren van het ongerief is in het directe belang van de proef. Veel aandacht wordt daarom besteed aan stressvrij houden van de dieren.
- ☐ nee, omdat:

d. Wanneer acht u het noodzakelijk om het dier te euthanaseren (humaan eindpunt)?

Er is geen sprake van ernstig lijden, waardoor euthanasie noodzakelijk zou kunnen worden. Gezien de nieuwe scan-technieken is het ook niet noodzakelijk de dieren te euthaniseren voor anatomische verificatie van de metingen. Ook het implantaat is te verwijderen zonder enig nadelig gevolg en met snel volledig herstel. Euthanaseren is dus niet van toepassing. Mocht het dier ernstig ziek worden dan zal het dier worden per injectie worden geëuthanaseerd.

5. a. Zijn er proefdieren bij die reeds eerder gebruikt zijn in andere onderwijselementen/experimenten?

☐ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en met welk ongerief: De proefdieren worden in soortgelijke andere experimenten gebruikt zijn (04/186, 03/157)

☒ nee

- b. Worden dezelfde dieren ook nog aan andere experimentele onderwijselementen/procedures onderworpen?

☐ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en met welk ongerief:

☐ nee

6. Uitsluitend voor genetisch gemodificeerde dieren:

- a. Specificeer het fenotype en beschrijf eventueel gerelateerd ongerief.
n.v.t.

- b. Hoe wordt dit ongerief ingeschat?
Maak een keuze

7. Opmerkingen:

Zie de aanvragen protocollen en bijlages van voorgaande jaren voor meer informatie.

DEEL C: OMSCHRIJVING DIERPROEF

Per diersoort en per procedure DEEL C apart beantwoorden en doornummeren. Dit is exemplaar 2. Onderstaande vragen voor elke experimentele procedure per onderwijselement apart beantwoorden (indien nodig dit deel van het formulier kopiëren).

Naam onderzoeker

Afdeling

Titel van deze studie: The Evolution of Spatial Abstraction and Categorization

Indien bekend:

DEC nr

05/269

Graag protocol/werkplan/behandelschema bijvoegen!

Het is belangrijk om de proefopzet zodanig te beschrijven dat het duidelijk wordt hoe met de gekozen proefopzet de vraagstelling(en) kan(kunnen) worden beantwoord en welke rol de verschillende experimentele groepen daarbij spelen. Vermeld hierbij in elk geval:

- de structuur van het experiment
- experimentele condities (onafhankelijke variabelen) per proefgroep
- de te meten parameters (afhankelijke variabelen) per proefgroep
- de benodigde aantallen proefdieren per proefgroep (inclusief de extra aantallen die men nodig denkt te hebben i.v.m. eventuele verliezen/uitval)

1. Diersoort: Macaca Mulatta
Aantal dieren: 2

2. a. Geef puntsgewijze omschrijving van de experimentele procedure (nummers) waaraan de dieren worden onderworpen. Vermeld hierbij tevens frequentie, klinische effecten etc. aard, duur ingreep en, indien van toepassing, lengte van de interval tussen de ingrepen.

MRI-scans

Methode:

Het brein van de dieren en de plaatsing van electrodes wordt non-invasief gevisualiseerd door het maken van MRI (Magnetic Resonance Imaging). Deze scan-techniek wordt op dit moment veelvuldig in ziekenhuizen bij mensen toegepast, zonder enig bekende korte of langdurende bijwerkingen. Bij mensen wordt deze techniek zonder verdoving toegepast, maar omdat het hoofd volledig stil moet zijn, zullen de apen verdoofd worden onder algehele verdoving.

Deze scans zullen gedaan worden voor het plaatsen van het implantaat (zie c-formulier 1). Dit is nodig om beter zicht te hebben waar we de electrodes het beste kunnen plaatsen. Verder zal de procedure herhaald worden (eenmalig) nadat de operatie is gedaan, om de precieze plaatsing van de electrodes te bepalen (Dit kan enkele jaren later zijn.) Dit gebeurt dan in plaats van histologische technieken waarbij het dier geëuthaniseerd moest worden.

- b. Worden er binnen de procedure farmaca (anders dan pijnstillers) gebruikt? Ja ☐ / ☒ Nee
Zo ja, geef aard, wijze, frequentie en plaats van toediening en dosering aan en mogelijke bijwerkingen.

3. a **Schatting van het ongerief dat als gevolg van het experiment bij de dieren optreedt per handeling en per bijbehorend interval.**

Gebruik uw opsomming uit vraag 2a als basis maar beschrijf niet alleen ongerief dat wordt veroorzaakt door de handeling zelf maar ook ongerief dat op termijn kan ontstaan als gevolg van die handeling.

Procedure			Ongerief	
Nr.	Duur procedure/ duur gevolg	Frequentie	Beschrijving van het ongerief tijdens en ten gevolge van de procedure	Inschatting
	30 min/0	1 of 2 x	bijkomen uit verdoving voor plaatsen in scanner	gering/matig
	/			n.v.t.
	/			n.v.t.
	/			n.v.t.
	/			n.v.t.
	/			n.v.t.

b. **Duur gehele experiment** 30 min

Inschatting ongerief gehele experiment. gering/matig

c. **Specificeer de klinische effecten in geval van (zeer) ernstig ongerief:**

4. a. Wordt anesthesie toegepast?

☒ ja, nl.: De procedure is onder algehele narcose (premedicatie Ketamine, gedurende scanning Isofluraan (1-3%), lachgas/zuurstof (50/50))

In welke vorm:

hoe lang: ong. 30 minuten (maximaal 1 uur)

met welke intervallen: n.v.t.

☐ nee, omdat:

b. Wordt pijnbestrijding toegepast?

☐ peri-operatief

☒ post-operatief

☐ beide

nl.: Asperine/paracetamol (aangezien er geen invasieve handelingen worden verricht, en het van korte duur is.) Alleen op indicatie kan ook Temgesic gegeven worden.

In welke vorm: oraal (temgesic im)

hoe lang: 1 dg

met welke intervallen:

☐ nee, omdat:

c. Worden andere methoden gebruikt om het ongerief voor de proefdieren zo veel mogelijk te beperken?

☐ ja, nl.: de verdoving vindt plaats in de kooi zodat het dier geen stress ondervindt van vervoer naar de scanner

☐ nee, omdat:

d. Wanneer acht u het noodzakelijk om het dier te euthanaseren (humaan eindpunt)?

n.v.t.

5. a. Zijn er proefdieren bij die reeds eerder gebruikt zijn in andere onderwijsselementen/experimenten?

☒ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en met welk ongerief: De proefdieren worden in soortgelijke andere experimenten gebruikt zijn (04/186, 03/158)

☐ nee

- b. Worden dezelfde dieren ook nog aan andere experimentele onderwijsselementen/procedures onderworpen?

☐ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en met welk ongerief:

☐ nee

6. Uitsluitend voor genetisch gemodificeerde dieren:

- a. Specificeer het fenotype en beschrijf eventueel gerelateerd ongerief.

- b. Hoe wordt dit ongerief ingeschat?

Maak een keuze

7. Opmerkingen:

DEEL C: OMSCHRIJVING DIERPROEF

Per diersoort en per procedure DEEL C apart beantwoorden en doornummeren. Dit is exemplaar 3. Onderstaande vragen voor elke experimentele procedure per onderwijselement apart beantwoorden (indien nodig dit deel van het formulier kopiëren).

Naam onderzoeker

Afdeling

Titel van deze studie: The Evolution of Spatial Abstraction and Categorization

Indien bekend:

DEC nr

05/269

Graag protocol/werkplan/behandelschema bijvoegen!

Het is belangrijk om de proefopzet zodanig te beschrijven dat het duidelijk wordt hoe met de gekozen proefopzet de vraagstelling(en) kan(kunnen) worden beantwoord en welke rol de verschillende experimentele groepen daarbij spelen. Vermeld hierbij in elk geval:

- de structuur van het experiment
- experimentele condities (onafhankelijke variabelen) per proefgroep
- de te meten parameters (afhankelijke variabelen) per proefgroep
- de benodigde aantallen proefdieren per proefgroep (inclusief de extra aantallen die men nodig denkt te hebben i.v.m. eventuele verliezen/uitval)

1. Diersoort: Macaca Mulatta
Aantal dieren: 2

2. a. Geef puntsgewijze omschrijving van de experimentele procedure (nummeren) waaraan de dieren worden onderworpen. Vermeld hierbij tevens frequentie, klinische effecten etc. aard, duur ingreep en, indien van toepassing, lengte van de interval tussen de ingrepen.

MRI-scans bij wakkere dieren

Het brein van de dieren en de activiteit in hersenen wordt non-invasief gevisualiseerd door het maken van MRI (Magnetic Resonance Imaging). De resultaten zullen worden gebruikt voor het exact bepalen van de juiste electrode-positie. Deze scan-techniek wordt op dit moment veelvuldig in ziekenhuizen bij mensen toegepast, zonder enig bekende korte of langdurende bijwerkingen. Omdat het hoofd volledig stil moet zijn, zal het hoofd van de apen, net als in de single cell studies worden gestabiliseerd. Waarschijnlijk is het genoeg om 3-4 keer te scannen. Om het dier te trainen is veel meer tijd nodig (enkele maanden), maar dit is ook onderdeel van de single unit experimenten (deel C1). Om het signaal te versterken zal er een contrast vloeistof veneus worden toegediend. Deze contrastvloeistof (MION) wordt ook in andere labs gebruikt, zonder bekende korte termijn of chronische bijeffecten.

Zie verder het uitgebreide protocol wat vorig jaar was bijgevoegd

- b. Worden er binnen de procedure farmaca (anders dan pijnstillers) gebruikt? Ja ☐ / ☒ Nee
Zo ja, geef aard, wijze, frequentie en plaats van toediening en dosering aan en mogelijke bijwerkingen.

3. a Schatting van het ongerief dat als gevolg van het experiment bij de dieren optreedt per handeling en per bijbehorend interval.

Gebruik uw opsomming uit vraag 2a als basis maar beschrijf niet alleen ongerief dat wordt veroorzaakt door de handeling zelf maar ook ongerief dat op termijn kan ontstaan als gevolg van die handeling.

Procedure			Ongerief	
Nr.	Duur procedure/ duur gevolg	Frequentie	Beschrijving van het ongerief tijdens en ten gevolge van de procedure	Inschatting
1	30 min/0	5dg/week max	watercontrole en training	gering/matig
2	30 min/0	5dg/week max	Hoofdstabilisatie	gering/matig
3	1 minuut/0	3-4 keer	veneuze toediening van contrastvloeistof, onder zo licht mogelijke sedatie	gering/matig
4	1 minuut/0	5 keer	i.m. Desferal toediening	gering/matig
5	5 minuten/0	2 keer	bloedafname voor bepaling ijzergehalte, onder zo licht mogelijke sedatie	gering/matig
	/			n.v.t.

- b. Duur gehele experiment jaren
- Inschatting ongerief gehele experiment. gering/matig

- c. Specificeer de klinische effecten in geval van (zeer) ernstig ongerief:

4. a. Wordt anesthesie toegepast?

☐ ja, nl.:

In welke vorm:

hoe lang:

met welke intervallen:

☐ nee, omdat:

b. Wordt pijnbestrijding toegepast?

☐ peri-operatief

☐ post-operatief

☐ beide

nl.:

In welke vorm:

hoe lang:

met welke intervallen:

☒ nee, omdat:

n.v.t.

c. Worden andere methoden gebruikt om het ongerief voor de proefdieren zo veel mogelijk te beperken?

☒ ja, nl.:

Uitgebreide training

☐ nee, omdat:

d. Wanneer acht u het noodzakelijk om het dier te euthanaseren (humaan eindpunt)?

Er is geen sprake van ernstig lijden, waardoor euthanasie noodzakelijk zou kunnen worden.
Bij ernstige ziekte van het dier zal het dier worden geëuthanaseerd.

5. a. Zijn er proefdieren bij die reeds eerder gebruikt zijn in andere onderwijsmomenten/experimenten?

☒ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en met welk ongerief: De proefdieren worden in soortgelijke andere experimenten gebruikt zijn (04/186, 03/158, 03/157)

☐ nee

b. Worden dezelfde dieren ook nog aan andere experimentele onderwijsmomenten/procedures onderworpen?

☐ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en met welk ongerief:

☐ nee

6. Uitsluitend voor genetisch gemodificeerde dieren:

a. Specificeer het fenotype en beschrijf eventueel gerelateerd ongerief.

b. Hoe wordt dit ongerief ingeschat?
Maak een keuze

7. Opmerkingen:

Bijlage bij C-formulier 1 van project nr 04/186, 03/157, 03/158, 05/269

Vraag 2a, Experimentele procedures:

4.1. Psychofysica

De apen zullen worden getraind om een handeling te verrichten (psychofysische taak). Tijdens deze trainingssessies zit de aap in een zogenaamde 'primaten-stoel' met de kop gestabiliseerd. De oogpositie wordt gemeten d.m.v. een magnetisch ooglus systeem of video systeem. Hiervoor wordt eenmalig onder algehele verdoving een gouden oogringetje rond het oog aangebracht. Het dier heeft van deze oogring geen last. (Bij het video systeem is deze oogring niet nodig. Op dit moment zijn 3 van de 4 opstellingen voorzien van een videosysteem).

Ter motivatie krijgt de aap bij elke correcte keuze een kleine hoeveelheid water of fruitsap. Tijdens de gedragstraining verdient het dier vocht naar behoeven in de trainingsopstelling. De minimale hoeveelheid die een dier krijgt is 25 ml vocht /kg (bij grote apen > 8 kg kan dit iets lager liggen). Als het dier tijdens de training minder tot zich neemt dan wordt het tot deze hoeveelheid aangevuld later op de dag. In bepaalde gevallen (bijvoorbeeld aan het begin van een training) is het mogelijk dat wordt afgeweken voor een korte periode. De trainingen vinden elke dag van maandag tot vrijdag plaats en de dieren krijgen de beschikking over een ruime hoeveelheid water (500 ml of meer) op vrijdag en zaterdag. Als het dier niet participeert in de experimenten, ziek is of minstens 48 uur voor en 2 weken na een operatie dan krijgt het dier onbeperkt water. De gezondheid van het dier is niet alleen voor het dier zelf maar ook voor het onderzoek van essentieel belang. Om de gezondheid te verifiëren houden we nauwgezet de volgende indicatoren in de gaten:

1. Lichaamsgewicht. Elke trainingsdag zullen de dieren worden gewogen op een nauwkeurige elektronische weegschaal. Gering gewichtsverlies (5-15%) kan worden verwacht; groter gewichtsverlies is een indicatie voor verminderde gezondheid en zal worden gevolgd door geschikte maatregelen, waaronder verhogen van de hoeveelheid vocht en aanbieden van ander voedsel.
2. Urine specifieke gewicht. Het urine specifieke gewicht kan bepaald worden en moet kleiner zijn dan 1.035.
3. Het vochtgehalte van de faeces wordt elke dag geïnspecteerd. Dit is de best bruikbare en gevoelige maat voor dehydratie. In de dagelijkse praktijk van ons lab hebben de apen altijd normale (vochtige) ontlasting. Dit is een belangrijk teken dat de dieren genoeg vocht krijgen.
4. Huid turgor. Vouden in de huid worden geïnspecteerd op veerkracht. In de dagelijkse praktijk van ons lab komt het niet voor dat op deze manier uitdroging wordt geconstateerd.
5. Algemeen activiteitsniveau en gedrag. Omdat we dagelijks met de dieren werken zijn veranderingen in het gedrag gemakkelijk te herkennen. Elke gedragsverandering, waaronder ernstige agitatie, depressie, slechte eetlust of vermindering van werklust, zal aanleiding geven tot grotere waakzaamheid en zonodig aanpassingen in aangeboden voedsel of drinken. In dit soort gevallen zal ook altijd de dierenarts geconsulteerd worden.

Hoewel geen van deze 5 punten afzonderlijk met zekerheid iets kunnen zeggen over het welzijn van het dier, geeft de combinatie van de verschillende indicatoren een betrouwbare maat voor de gezondheid. Voor elk dier zal een apart logboek worden bijgehouden waarin alle indicatoren, drink- en eet hoeveelheden en andere bijzonderheden worden genoteerd. Dit logboek is ook zeer belangrijk in de communicatie tussen verzorgers en onderzoekers, bijvoorbeeld om ten alle tijde ervoor zorg te dragen dat de dieren per dag voldoende water krijgen. Naast het logboek per dier, wordt er ook een logboek bijgehouden voor de temperatuur en luchtvochtigheid van de huisvestingsplaats.

4.2. Hoofdimplantaat

Het is noodzakelijk voor de experimenten om de oogpositie te kunnen bepalen. Dit wordt gedaan door middel van een gouden oogringetje die eenmalig wordt aangebracht. Onder volledige narcose (initiële verdoving: ketamine (10mg/kg), gevolgd door isofluraan via inhalatie, zoveel als nodig is), plaatsen we op het oog een oogring (volgens de methode van Judge, 1980,). Bij dieren waarbij we met een videosysteem werken is het niet nodig de oogring te plaatsen. Er wordt naar gestreefd om in elke opstelling gebruik te gaan maken van een videosysteem, zodat het plaatsen van een oogring niet meer nodig is. Daarnaast wordt een hoofdimplantaat vastgezet op de schedel door een combinatie van schroeven, botplaatjes en tandartsceement. De afleidcylinder wordt over een craniotomie van 1.6 cm doorsnee in de geplaatst, mbv van een hand trepaan. De dura blijft intact.

De hoofdimplantaten worden elke dag geïnspecteerd en regelmatig schoongemaakt. Bij alle dieren wordt elke dag de wondrand geïnspecteerd en waar nodig schoongemaakt en vrijgemaakt van haren. De afleidcylinders worden ook regelmatig geïnspecteerd en minstens 2 keer per week schoongemaakt met waterstof peroxide (3%) of sterilon (10%) en gespoeld met grote volumes steriel water. Als er oppervlakkig moet worden gemeten dan is het soms noodzakelijk dat onder lichte verdoving aangegroeid weefsel wordt verwijderd.

Het is mogelijk dat na enkele jaren een nieuw hoofdimplantaat moet worden aangebracht. Dit zal gebeuren in overleg met de proefdierdeskundige.

4.3. Procedures voor het afleiden van neuronen

Bij deze experimenten worden neuronen in de cortex afgeleid m.b.v. micro-electrodes. We gebruiken standaardprocedures die over de gehele wereld in vergelijkbaar onderzoek worden gebruikt. We gebruiken een grid systeem (Crist et al. 1988, J. Neuroscience Methods, 26: 117-126) dat bevestigd wordt in de cylinder. Een roestvrijstalen geleidingsbuisje wordt, zo nodig onder locale verdoving, door het grid en de dura mater gestoken. Fijne wolfram-electrodes worden door het geleidingsbuisje gestoken, om de activiteit van neuronen in specifieke gebieden te meten. Het inbrengen van de electrodes is pijnloos, omdat in de hersenen zelf geen pijnreceptoren aanwezig zijn. De geleidingsbuisjes worden voor gebruik gespoeld met steriel water en 30 minuten in een oplossing van Durr ID212 desinfectie middel gelegd en daarna weer gespoeld met steriel water.

4.5. Globale tijdsplanning

Voordat we met het trainen van de proefdieren kunnen beginnen, zullen ze moeten wennen aan de nieuwe omgeving (1 maand). Daarna zullen ze langzaam gewend worden aan het plaatsnemen in de opstelling (1 maand). Daarna zal de operatie voor de

hoofdstabilisator (en eventueel de oogring) plaatsvinden. Nadat de dieren geheel hersteld zijn van de operatie, zullen we ze wennen aan het stabiliseren van het hoofd (1 week). Als ze eenmaal gewend zijn, kan er begonnen worden met de psychofysische training (zie bijlage 1 voor een uitgebreide beschrijving van de operaties en de training). Aangezien we de proefdieren een vrij moeilijke taak willen leren, kan het trainen een behoorlijke tijd duren (4 maanden - 1 jaar).

Procedures

(Zie voor ongerief inschatting het C1 formulier)

1. Water rescheduling. Voor motivatie en beloningsdoeleinden krijgen de dieren water of fruitsap bij het correct uitvoeren van de taak. De dieren hebben de totale hoeveelheid water zelf in de hand want ze kunnen naar gelieven doorgaan of stoppen met het uitvoeren van de psychofysische taak (vandaar dat wij dit gering ongerief noemen). Er zal nauwkeurig op toegezien worden de dieren voldoende water tot zich nemen en er zal altijd een minimum aan vocht worden gegeven. Het dieet zal verder worden aangevuld met primaten-snoep, vitamines, en dagelijks fruit.

2. Hoofdstabilisatie. Tijdens de electrofysiologische metingen dient het hoofd stilgehouden te worden. Hiervoor wordt het hoofd gestabiliseerd, maar de rest van het lichaam kan vrij worden bewogen. Het is gebleken dat rhesus makaken dit gemakkelijk accepteren en gedurende enkele uren met het hoofd gestabiliseerd de gewenste taken uitvoeren. In de praktijk blijkt zelfs dat de dieren in slaap vallen na verloop van tijd als ze niet meer voldoende gemotiveerd zijn (wat dus geen teken van stress is).

3. Ontwaken uit narcose. De chirurgische procedure voor het aanbrengen van de (eventuele) oogring, cylinder en hoofdstabilisator is onder algehele narcose. Na de operatieve ingreep zal 1-3 dagen lang pijnstillers worden gegeven. Normaal gesproken bestaat dit uit 2-3 dagen Temgesic (10 micrgr./kg). In overleg met de dierenarts kan dit aangevuld worden met NSAID's (aspirine e.d.) (De dieren krijgen minimaal 2 weken om te herstellen na de operatie voordat de experimenten worden voortgezet. Voor de voorgestelde MRI-scans (zie bijlage) zullen de dieren ook onder narcose worden gebracht. Bij deze handeling is het ongerief veel minder omdat er geen invasieve ingrepen worden verricht.

4. Chronische implantaten. Het hoofdimplantaat is noodzakelijk voor de afleidingen en geeft voor het dier enige verhoging van het risico op infectie. De conditie van het implantaat wordt elke dag gecontroleerd. De cylinder wordt minstens 2 keer per week schoongemaakt en gespoeld met steriel water en desinfecterende middelen. De wondranden worden schoongehouden en vrijgehouden van haren. Bij mogelijke infectie wordt in overleg met de dierenarts maatregelen genomen.

5. Inbrengen geleidingsbuisje. Gering ongerief is te verwachten van het inbrengen van het geleidingsbuisje. De hersenen zelf bevatten geen pijnreceptoren, en de electrode zelf kan dus niet gevoeld worden, maar de dura is rijk geïnnerveerd, en het geleidingsbuisje gaat daar doorheen. Het geleidingsbuisje is aan het uiteinde scherp en het inbrengen is in die zin vergelijkbaar met het aanbrengen van een injectie spuit in de huid. Voor het inbrengen van het geleidingsbuisje zal er zonodig locale verdoving worden toegepast. De apen blijken weinig last te hebben van deze procedure. Ook bij mensen worden tijdens neurochirurgische operaties electrodes in de hersenen gebracht terwijl de patient lokaal verdoofd is (bijv. bij de behandeling van epilepsie en de ziekte van Parkinson). Mensen rapporteren tijdens deze procedure geen pijn.

6. Huisvesting. Voor de gehele onderzoeksgroep is er plaats voor 6 dieren. De dieren worden gehuisvest in zeer ruime verblijven in 1 groep van 4 (5.4 x 2 x 2 meter) en 1 groep van 2 (3.6 x 2 x 2 meter). Er zal kooiverrijking worden toegepast.

7. Minimaal 1x per jaar wordt door de dierenarts een gezondheidscheck gedaan. Hiervoor worden de dieren onder lichte ketamine/domitor anesthesie gebracht voor ongeveer 10 minuten. Er vindt een algemene gezondheid check plaats (longen, hart, palpatie e.d.), er wordt bloed en ontlasting afgenomen voor virologisch, bacteriologisch en parasitair onderzoek. Daarnaast wordt getest op TBC (dodelijk en zeer besmettelijk voor makaken) en eventuele injecties gegeven (ontwormen, tetanus e.d.). De TBC test bestaat uit injectie van tuberculine in een van de oogleden. Het middel Antisedan wordt na de procedures toegediend om het bijkomen te versnellen.

Methoden om ongerief te beperken:

∴ ad 1. Water rescheduling

Er zal nauwlettend op worden toegezien dat de dieren genoeg water tot zich nemen. Als het dier een paar dagen niet participeert in de experimenten, ziek is of minstens 48 uur voor en 2 weken na een operatie krijgt het dier onbeperkt water.

ad 2. Hoofdstabilisatie

Het dier zal gewend worden om met het hoofd vast te zitten. Het blijkt dat apen hier snel aan wennen.

ad3. Ontwaken uit narcose

Zie hierboven voor post-operatieve pijnbehandeling. Verder zal het dier antibiotica krijgen om de kans op infectie te verkleinen.

ad 4. Chronische implantaten

Veelvuldig schoonmaken van wondrand en cylinder en gebruik van steriel materiaal zal de kans op infecties en daarmee de last van het implantaat zoveel mogelijk verminderen.

ad 5. Inbrengen geleidingsbuisje

Voor het inbrengen van het geleidingsbuisje zal de dura en het opliggende bindweefsel lokaal zo nodig worden verdoofd.

ad 6. Huisvesting

De dieren zijn gezamenlijk gehuisvest en er wordt kooiverrijking toegepast.

Ad 7. Door de combinatie Domitor/ketamine en Antisedan hebben de dieren weinig last van de lichte verdoving.

Geachte DEC-leden,

Hierbij wil ik u wijzen op een net uitgekomen rapport uit Engeland waarin zeer duidelijk en uitgebreid allerlei aspecten van ons type onderzoek worden besproken (o.a. proefdiertechnische zaken, noodzaak, alternatieven en toekomst). The titel van het rapport is: "the use of non-human primates in research" en is opgesteld in opdracht van "the Academy of Medical Sciences", "Medical Research Council", "Royal Society" en "Wellcome Trust". Met name blz. 59-83 gaat uitgebreid over het soort onderzoek wat in onze aanvragen wordt beschreven.

Het rapport kan worden gedownload op:

<http://www.mrc.ac.uk/Utilities/Documentrecord/index.htm?d=MRC003440>

U kunt ook mij of het secretariaat van de DEC emailen voor een pdf-file.

Met vriendelijke groeten,

[Redacted signature]

[Redacted signature]

Betrokken personen bij 04/186, 03/157, 03/158 en 05/269

Artikel 9 bevoegd

- [REDACTED] (PI)
- [REDACTED] (PI)
- [REDACTED] (Postdoc)
- [REDACTED] (AIO)
- [REDACTED] (AIO)
- [REDACTED] (AIO)
- [REDACTED] (AIO)
- [REDACTED] (Dierenarts Gezelschapsdieren)
- [REDACTED] (Dierenarts, Anaesthesie, Gezelschapsdieren)

Artikel 12 bevoegd

- [REDACTED] (Biotechnicus)
- [REDACTED] (Diervorzorger)
- [REDACTED] (Diervorzorger)
- [REDACTED] (Biotechnicus)



Universiteit Utrecht

De Uithof, Utrecht

11 januari 2007
[redacted] 07/00651

Academisch Biomedisch Centrum
DEC-ABC

[redacted]
ambtelijk secretaris
Telefoon 030 250 9247
Fax 030 250 5022
Huispost D 01.343
E-mail dec-abc@umcutrecht.nl

Onderzoeksproject : Spatial abstraction in macaque prefrontal cortex
DEC-nummer : 2007.I.01.005 (= 05/269)
GDL-nummer : 40032
Advies d.d. 10/01/2007 : Positief advies (met opmerkingen) tot 1 februari 2009
Aantal en soort dieren : 6 makaken (geen nieuwe dieren)
Geldstroom : Intern

Geachte heer [redacted],

De DierExperimentenCommissie (DEC-ABC) heeft het door u ingediende bovenvermelde onderzoeksproject besproken.

Advies en voorwaarde(n):

De DEC erkent dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de dieren en geeft een positief advies af voor het gebruik van 6 makaken. Het betreft hier geen nieuwe dieren. De DEC geeft een positief advies voor 2 jaar op voorwaarde dat u in januari 2008 terugrapporteert bij Kamer I. Het formulier hiertoe kunt u downloaden vanaf de website.

Wel heeft de DEC de volgende opmerkingen:

- Deel C1, punt 3a, procedure 7: U dient het gebruik van Antisedan voortaan ook bij punt 2b te vermelden.
- Deel C2, punt 3a: Het ontwaken uit narcose dient u in te schatten als matig.
- Deel C3, punt 3a, procedure 4: U dient het toedienen van de Desferal voortaan ook bij punt 2b te vermelden.

Per 1 januari 2007 zijn de DEC-DGK/FSB en de DEC-GNK gefuseerd tot de DEC-ABC. Op grond hiervan krijgen alle ingediende DEC aanvragen een nieuw uniform nummer, ongeacht of het een vervolg- of herhalingsaanvraag danwel het beantwoorden van vragen betreft. Ik verzoek u dringend voortaan alleen dit nieuwe nummer te gebruiken bij correspondentie met de DEC-ABC.

Informatie over de DEC-ABC is te vinden op internet. Het adres is: www.dec.uu.nl. Hier vindt u o.a. het vergaderschema en de werkwijze van de DEC. U kunt hier ook de verschillende DEC-formulieren downloaden.



2

Conform het advies van de DEC wordt toestemming verleend tot het uitvoeren van deze dierproef. De DEC verzoekt u in geval van vragen en/of opmerkingen deze te beantwoorden in een brief en zo nodig aangepaste formulieren als bijlage mee te zenden.

Namens de vergunninghouders,
het College van Bestuur UU en/of Raad van Bestuur UMC Utrecht,

ambtelijk secretaris DEC-ABC

C.c.: