



Proefdierkundig Jaarverslag



2013

INHOUDSOPGAVE

Inleiding

Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC	4
Traject voorafgaand aan een dierproef	4
Dierexperimenten Commissie	5
Aantal DEC aanvragen	6

Dierexperimenteel onderzoek

Huisvesting, verzorging en welzijn	7
Diertraining	7
Diergeneeskunde	8
AAALAC	8
Details dierexperimenteel onderzoek	9
Immunobiologie	10
Virologie	12
Parasitologie	14
Vergelijkende Genetica en Verfijning	16
Alternatieven	18
Uitgelicht: <i>Investering in verfijning levert een relevanter diermodel op</i>	20
Openheid en communicatie	22



COMMITTED TO HEALTH RESEARCH AND ALTERNATIVES

www.bprc.nl

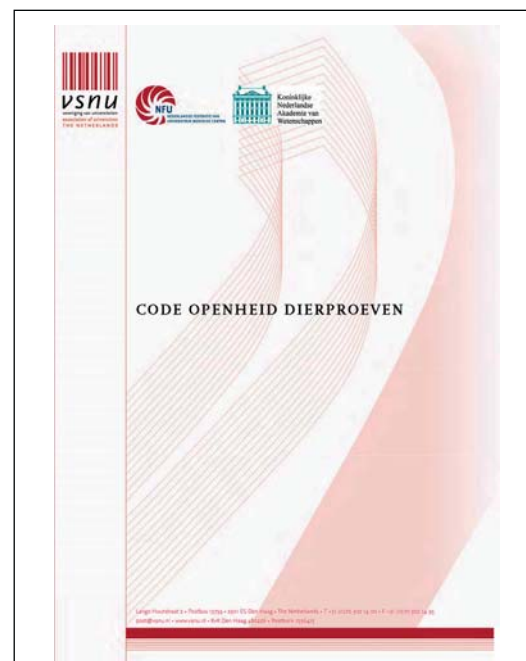
Biomedical Primate Research Centre

RIJSWIJK, THE NETHERLANDS

Het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) is een wetenschappelijk instituut dat zowel verkennend als toegepast biomedisch onderzoek verricht in het belang van de volksgezondheid. Daarnaast levert het BPRC een actieve bijdrage aan de ontwikkeling van alternatieven voor dierproeven.

Het doel van het verkennend onderzoek is het verkrijgen van kennis over het ontstaan en het beloop van chronische- en infectieziektes. Het doel van het toegepast onderzoek is om een bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van nieuwe medicijnen of behandelingen voor ernstige ziektes. Dit zijn langdurige processen die helaas -nog- niet mogelijk zijn zonder dierproeven en zij gaan dan ook vergezeld met maatschappelijke zorg over het welzijn van de proefdieren. Naast onderzoek waarbij proefdieren ingezet worden, wordt er in het BPRC ook onderzoek gedaan om alternatieven voor het gebruik van proefdieren te ontwikkelen. Het BPRC heeft een actief en uitgebreid programma voor het ontwikkelen van alternatieven volgens de principes van de drie **V's** die staan voor **V**ervanging, **V**ermindering en **V**erfijning. Onderzoek naar het ontwikkelen van alternatieven is deels ondergebracht in een unieke, onafhankelijke Unit. Daarnaast wordt in alle andere onderzoeksafdelingen het ontwikkelen en het gebruik van alternatieven actief ondersteund en gestimuleerd.

Het BPRC onderkent de verantwoordelijkheid die de inzet van dieren ten behoeve van de menselijke gezondheid met zich meebrengt. In het kader van maatschappelijk verantwoord ondernemen (MVO) streven wij ernaar om mede middels dit proefdierkundig jaarverslag het publiek te informeren en openheid te verschaffen over de projecten waarvoor dieren worden ingezet (Code Openheid Dierproeven), de rol van de dierexperimenten commissie, de aantallen dieren die ingezet zijn in 2013, alsmede over de ontwikkelingen op het gebied van alternatieven voor dierproeven.



INLEIDING

Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC

De gezondheid van mensen in bepaalde delen van de wereld is de afgelopen 100 jaar aanzienlijk verbeterd. Mensen leven langer en in betere gezondheid. Deze verbeteringen zijn deels het gevolg van toegenomen hygiënische omstandigheden maar ook van de geneesmiddelen en vaccins die in deze periode, vaak mede dankzij proefdier onderzoek, zijn ontwikkeld. Om ziektes die nog niet voorkomen of genezen kunnen worden succesvol te bestrijden is uitbreiding van onze kennis noodzakelijk. Biomedisch onderzoek vormt dan ook de basis voor de ontwikkeling van nieuwe en veilige medicijnen en therapieën.

Het BPRC is het grootste niet-commerciële primatencentrum van Europa en speelt een centrale rol bij het biomedisch onderzoek naar ernstige menselijke ziektes. Het BPRC verricht geen onderzoek voor de ontwikkeling van cosmetica (bij wet verboden), recreatieve drugs of wapens. Bij het BPRC wordt wel onderzoek verricht met als doel om ziektes zoals AIDS, griep, West Nile virus, malaria, tuberculose, multiple sclerose, de ziekte van Parkinson en reumatoïde artritis te bestrijden. Tevens wordt er gewerkt aan medische vraagstukken zoals transplantaatafstoting. De Nederlandse wet bepaalt dat hiervoor alleen apen ingezet mogen worden als er geen geschikte alternatieven zijn. Naast de incorporatie van de 3V's bij al het onderzoek waarbij proefdieren ingezet worden, wordt er in dit kenniscentrum in een aparte, onafhankelijke Unit onderzoek gedaan om alternatieven voor het gebruik van proefdieren te ontwikkelen.

Traject voorafgaand aan een dierproef

Voordat een dierproef uitgevoerd kan worden, is er al een lange weg afgelegd. De eerste selectie van kandidaat geneesmiddelen vindt altijd plaats in het laboratorium door middel van *in vitro* technologie. Hierbij worden proeven in het lab gedaan (bijv. weefselkweek technieken) en worden geen proefdieren gebruikt. Hoe beter deze technologie de situatie in levende mensen of dieren (*in vivo*) benadert, des te beter de voorspellende waarde voor de eventuele werking in de mens. Na een *in vitro* testfase kunnen mogelijk interessante ideeën of moleculen in aanmerking komen voor *in vivo* testen. Zulke ideeën of moleculen kunnen binnen het BPRC, maar ook binnen andere onderzoekscentra, universiteiten of kenniscentra ontwikkeld zijn. Belangrijk is dat, ondanks al het verrichte voorwerk, er in geen geval een dierproef gestart kan worden zonder dat daarvoor een positief advies van de dierexperimenten commissie is afgegeven.



Dierexperimenten Commissie

De Wet op de Dierproeven schrijft voor dat een experiment waarbij proefdieren ingezet worden pas mag worden uitgevoerd wanneer de dierexperimenten commissie (DEC) hierover een positief advies heeft uitgebracht aan de vergunninghouder van de instelling waar de proef wordt uitgevoerd. De DEC bestaat uit deskundigen op het gebied van dierproeven, alternatieven voor dierproeven, dierenbescherming en -welzijn en toegepaste (bio-)ethiek alsmede uit niet-deskundigen die uit verschillende geledingen van de samenleving afkomstig zijn. De voorzitter van de DEC is géén BPRC werknemer. Verder is er krachtens artikel 14 van de wet op dierproeven, een proefdierdeskundige aangesteld bij het BPRC. Deze is permanent adviseur van de DEC en neemt zonder stemrecht aan de DEC vergaderingen deel. Om de onafhankelijkheid van de proefdierdeskundige te waarborgen heeft het BPRC er voor gekozen om voor deze positie een externe kandidaat aan te stellen.

De DEC heeft de taak om het te verwachten ongerief van het proefdier af te wegen tegen het wetenschappelijk belang van het experiment. Elk afzonderlijk experiment wordt in een plenaire vergadering met alle DEC leden uitgebreid besproken. Vaak heeft de commissie aanvullende informatie nodig voordat ze tot een beslissing kan komen.

Een belangrijk onderdeel van de ethische afweging die de DEC maakt is de taak om het voorstel om proefdieren in te zetten nauwgezet te toetsen op de mogelijkheid van het gebruik van alternatieve methoden. Als de beoogde antwoorden ook zonder inzet van proefdieren (**Vervanging**), of met de inzet van minder proefdieren (**Vermindering**), of met een andere proefopzet waarbij de proefdieren minder ongerief ondervinden (**Verfijning**), verkregen zouden kunnen worden dan zal de DEC negatief adviseren en wordt de voorgenomen dierproef niet uitgevoerd.



INLEIDING

Aantal DEC aanvragen

In 2013 zijn er aan de DEC van het BPRC in totaal 9 nieuwe aanvragen ter advies voorgelegd.

Bij 8 aanvragen betrof het experimenten met een specifiek omschreven maximale projectduur. In alle 8 gevallen moest er eerst extra informatie worden gegeven voordat een advies kon worden uitgebracht. Uiteindelijk kregen 5 aanvragen een positief advies, terwijl bij 3 aanvragen de advisering in 2013 nog niet was afgerond.

Bij 1 aanvraag betrof het een meerjarig voorstel. Dit betreft een type projectvoorstel waarbij toestemming wordt gevraagd voor het uitvoeren van een wetenschappelijk onderzoekstraject waarbij in een bestaand, goed omschreven en relevant diermodel onderzoek gedaan wordt naar preventie, ziekteverloop of behandeling van bepaalde ziektes voor een langere periode. Positief advies kan worden afgegeven voor een periode van maximaal 5 jaar onder voorwaarde dat voor elk afzonderlijk dierexperiment een gedetailleerd sub-protocol wordt ingediend bij de vergunninghouder, met daarin specifieke informatie over exacte opzet en uitvoering van het experiment. De vergunninghouder vraagt dan nader advies aan de DEC over de uitvoering van het specifieke experiment. Over dit meerjarig onderzoeksplan was de advisering in 2013 nog niet afgerond.

In 2013 zijn in totaal 10 sub-protocollen, behorend bij een eerder van een positief advies voorzien meerjarig voorstel, ter advisering aan de DEC voorgelegd. Bij 4 aanvragen werd direct positief geadviseerd, bij 6 aanvragen werd een voorwaardelijk positief advies uitgebracht. Een definitief positief advies volgde pas nadat de voorwaarden door de onderzoeker waren geaccepteerd. In 2013 is 4 keer een wijziging in een van de lopende sub-protocollen ter advies ingediend bij de commissie. Het betrof veelal kleine wijzigingen die weinig of geen additioneel ongerief met zich mee brachten. In deze gevallen werd direct een positief advies gegeven. Eén keer werd eerst om aanvullende informatie gevraagd voordat er advies werd uitgebracht.

Naast deze aanvragen werden er ook verzoeken ingediend tot aanpassingen in al lopende experimenten. Omdat er tijdens experimenten omstandigheden kunnen veranderen, is het soms noodzakelijk om de onderzoeksplannen tijdens de uitvoering van het experiment aan te passen. Het betreft veelal kleine wijzigingen die geen extra ongerief voor de dieren met zich meebrengen of soms zelfs gericht zijn op het verminderen van het ongerief. Het kan ook zijn dat de onderzoeker dient te anticiperen op de uitkomsten van een onderzoek. Toch dienen ook zulke aanpassingen door de DEC beoordeeld te worden. In totaal werd er in 2013 24 keer een positief advies uitgebracht over aanpassingen.

Het ontbreken van negatieve adviezen kan worden toegeschreven aan een uniek voortraject waarin niet goed onderbouwde onderzoeksvoorstellen worden uitgefilterd. Onderzoekers dienen voorgenomen experimenten aan de hand van een uitgebreid formulier zeer nauwkeurig te beschrijven, alsmede de mogelijkheden en onmogelijkheden tot het gebruik van alternatieven te verkennen en te onderbouwen. Deze experimenten zijn daarvoor vaak al op wetenschappelijke kwaliteit beoordeeld en goedgekeurd door collega's in het onderzoeksveld. Vervolgens wordt de aanvraag door de proefdierdeskundige en door een door het BPRC ingestelde interne leescommissie op volledigheid nagekeken voordat het uiteindelijk voor advies wordt ingediend bij de DEC. De kans dat hier dan nog ondoordachte of ethisch slecht afgewogen voorstellen tussen zitten is daarmee heel klein geworden.



Huisvesting, verzorging en welzijn

Het BPRC huisvest gemiddeld zo'n 1500 niet-humane primaten. Dit zijn drie verschillende apensoorten: er zijn ongeveer 1100 resus apen, 200 Java apen en 200 witoorpenseelapen (marmosets). In 2013 zijn er in de fokkolonie van het BPRC 177 geboortes geweest bij de resus apen, 24 bij de Java apen en 20 bij de marmosets. Het relatief grote aantal dieren in de kolonie in vergelijking met het aantal dieren dat in studies wordt gebruikt heeft verschillende oorzaken. Het BPRC beschikt over eigen fokkolonies waarbij -in tegenstelling tot bij de meeste andere primatencentra- besloten is makaken pas in te zetten vanaf hun vierde levensjaar. Dit is de leeftijd waarop in het wild de mannen beginnen te migreren naar andere groepen. Tot die tijd blijven de dieren in de natuurlijke samenstelling in hun geboortegroep. Tijdens deze periode wordt ook begonnen met eenvoudige trainingen van de dieren. De dieren vertonen hierdoor veel minder stress en stereotype gedrag zodra ze in de experimentele faciliteit worden gehuisvest. Het gevolg hiervan is wel dat in de fokkolonie naast de fokdieren ook minimaal 4 jaargroepen aanwezig zijn waardoor er relatief grote aantallen dieren aanwezig zijn. Ditzelfde beleid vindt plaats voor de marmosets. Zij zijn gehuisvest in familiegroepjes van een paartje met hun jongen waarbij de jongen minimaal 1½-2 jaar gehuisvest blijven binnen deze familiestructuur. Voor de Java apen is dit niet van toepassing. Zij worden voornamelijk gebruikt in gedrags onderzoek in samenwerking met de Universiteit Utrecht en worden hiervoor helemaal niet uit de kolonie gehaald.

Diertraining en welzijn

Het trainen van dieren is gericht op het zo veel mogelijk op vrijwillige basis mee laten werken van de dieren aan een aantal handelingen tijdens studies. Dit vormt een belangrijk hulpmiddel bij het verder verbeteren van het dierenwelzijn. Trainen van dieren loopt uiteen van het aanpakken van medicijnen tot het vrijwillig accepteren van injecties of bloedafnames. Het trainen bij het BPRC vindt plaats middels Positive Reinforcement Training (PRT). Het BPRC werkt samen met collega's van andere primatencentra in het kader van een groot Europees project (EUPRIM-Net2) aan continue verbetering van deze trainingen. Om te bepalen wat het effect van trainingen en toepassingen van verdere verbeteringen op de dieren is, wordt regelmatig gecontroleerd op stress hormonen. Het BPRC doet dit op een niet-invasieve wijze door het bepalen van specifieke stress hormonen in haarmonsters. De kennis die op deze wijze verkregen wordt, wordt gebruikt voor het controleren en steeds verder verbeteren van het welzijn van de dieren.

Gedragsdeskundigen vormen een specifieke groep binnen de Animal Science Department (ASD). Deze groep houdt zich met name bezig met wetenschappelijk onderzoek waarbij ook meer inzicht wordt verkregen over de specifieke gedragingen van apen. Deze kennis wordt ook ingezet om de huisvesting en verzorging steeds verder te verbeteren.



Sampelen van speeksel bij marmosets



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Diergeneeskunde

De diergeneeskundige groep van het BPRC bestaat uit 3 dierenartsen en 2 assistenten, aangevuld met een patholoog en laboratoriummedewerkers. Deze groep is met name verantwoordelijk voor de controle op de gezondheid van de dieren in zowel de fokgebouwen als de dieren in studie. Naast deze gezondheidsbewaking onderzoekt deze groep ook of er verbeteringen mogelijk zijn in de gezondheidszorg voor de dieren. Voorbeelden zijn studies naar betere behandelmethodes, het verbeteren van de diëten voor de dieren, het onderzoek naar bij de dieren van nature voorkomende ziektes en de voorkoming en/of genezing hiervan, en het bepalen van stress op niet-invasieve manieren. Dit heeft o.a. geresulteerd in aanpassingen van het antibioticabeleid, verfijning van specifieke technieken om EEG te meten, en het meten van stress factoren in haren in plaats van in bloed. Hierbij wordt samengewerkt met verschillende nationale en internationale experts. Door deze studies te publiceren in de wetenschappelijke vakliteratuur worden onze resultaten gedeeld met anderen.

AAALAC

Sinds 2012 heeft het BPRC de AAALAC accreditatie. AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) is een internationale non-profit organisatie die zich bezig houdt met huisvesting, verzorging en welzijn van proefdieren. Organisaties die voldoen aan hun hoge eisen kunnen geaccrediteerd worden en worden daarna regelmatig door hen gecontroleerd om het welzijn van de dieren optimaal te houden. Binnen Europa is het BPRC het eerste primatencentrum met een AAALAC accreditatie.



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Details dierexperimenteel onderzoek

In totaal werden er in 2013 19 studies bij het BPRC verricht waarbij in totaal 231 proefdieren ingezet zijn. Meer specifiek zijn er 161 resus apen ingezet in 11 studies, 34 Java apen in 3 studies en 36 marmosets in 5 studies.

Bij het BPRC worden experimenten verricht die de volgende doelen dienen: onderzoek m.b.t. de mens (pre-klinisch onderzoek zoals de ontwikkeling van vaccins en geneesmiddelen) en onderzoek met als doel een antwoord te krijgen op wetenschappelijke vragen. Tabel 1 geeft weer hoeveel dieren voor de verschillende onderzoeksdoelen zijn gebruikt.

Doelen	Resus apen	Java apen	Marmosets
Onderzoek m.b.t. de mens	137	34	24
Wetenschappelijke vraag	24	0	12

Tabel 1. Aantallen ingezette dieren per doel.

Een belangrijke factor voor het advies dat een DEC geeft, is het te verwachten ongerief voor de ingezette proefdieren (zie: Dierexperimenten Commissie). Daarnaast houdt de DEC bij het bepalen van het advies ook rekening met de duur van het ongerief. Beiden zijn afhankelijk van de aard van het experiment. Hoe hoger en langer het te verwachten ongerief, des te zwaarder moeten de wetenschappelijke en volksgezondheid belangen wegen om het experiment te mogen uitvoeren. Ondanks dat ongerief moeilijk is te kwantificeren blijken de volgende categorieën in de praktijk goed bruikbaar:

1. gering ongerief (zoals een enkele bloedafname, maar ook onnatuurlijke huisvesting); 2. gering tot matig ongerief; 3. matig ongerief (zoals frequente bloedafnames en vaccinatie); 4. matig tot ernstig ongerief; 5. ernstig ongerief (zoals ziekte verschijnselen van AIDS, tuberculose, artritis); 6. zeer ernstig ongerief. Onderzoek waarbij zeer ernstig ongerief vooraf wordt ingeschat wordt niet uitgevoerd binnen het BPRC.

In tabel 2 is per diersoort het ontvangen ongerief gespecificeerd.

Ontvangen ongerief	Resus apen	Java apen	Marmosets
Gering			
Gering/matig			
Matig	107	28	21
Matig/ernstig	38	6	12
Ernstig	16		3
Zeer ernstig			

Tabel 2. Ingeschat ongerief ondergaan door ingezette dieren.



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Binnen de afdeling **Immunobiologie** wordt gewerkt aan de ziekten multiple sclerose (MS), reumatoïde artritis (reuma) en de ziektes van Parkinson en Alzheimer.

MS en reuma worden veroorzaakt door een ongewenste reactie van het immuunsysteem tegen het eigen lichaam (auto-immuunziektes). In MS is de isolatielaag van myeline rond de zenuwbanen in de hersenen en het ruggenmerg het doelwit van de immunreactie. Bij reuma is de reactie gericht tegen het kraakbeen in de gewrichten. De immunreacties veroorzaken ontstekingen en beschadigen de doelwitorganen.

Voor het **MS** onderzoek worden in het BPRC resus apen en marmosets gebruikt. Voor een aantal doeleinden is de resus aap beter geschikt dan de marmoset, zoals wanneer grotere volumina bloed nodig zijn voor het immunologisch onderzoek of wanneer veelbelovende nieuwe therapieën voor MS niet testbaar zijn in marmosets. De ziekteverschijnselen die opgewekt worden in deze dieren lijken in veel opzichten op neurologische ziektes die bij mensen spontaan lijken te ontstaan: in resus apen verloopt het ziekteproces erg acuut (gelijkend op een acute vorm van MS in de mens), in marmosets verloopt het ziekteproces meer chronisch zoals de meest voorkomende vorm van MS in de mens. Een belangrijke reden voor het onderzoek naar MS in apen is de centrale rol van een type 'cytotoxische cellen'. Deze cellen spelen in de ziektemodellen in knaagdieren een ondergeschikte rol, terwijl ze bij MS patiënten wel degelijk een rol spelen. MS is een ernstige neurologische ziekte, met symptomen die het dagelijks functioneren verstoren, zoals verlamming, blindheid en vermoeidheid. Onderzoek naar MS brengt dan ook met zich mee dat de dieren ook ongemak ondervinden van de symptomen die bij MS horen. Een belangrijk doel van het onderzoek is de modellen dan ook zoveel mogelijk te verfijnen. Daarmee beogen we niet alleen het ongerief voor de dieren te verminderen, maar ook om de relevantie van de modellen voor de mens te vergroten. In de loop der jaren is een aanmerkelijke verfijning van de ziekte in marmosets ontwikkeld, namelijk de vervanging van een sterk belastende hulpstof (adjuvant) die gebruikt wordt om de ziekte op te wekken door een mildere variant die veel minder bijwerkingen heeft. Op basis van de verkregen nieuwe inzichten willen we een dergelijke verfijning ook voor de resus aap proberen te realiseren.

Reuma is een ziekte die in Nederland bij ongeveer 4% van de mensen voorkomt. De ziekte wordt gekenmerkt door een pijnlijke ontsteking van één of meerdere gewrichten en kan leiden tot ernstige vervormingen en invaliditeit. Nieuwe medicijnen die specifiek werken dan de oudere ontstekingsremmers en waarmee we de bijwerkingen beter kunnen controleren zijn in ontwikkeling. Veel van deze specifiek werkende middelen binden aan doelwit moleculen die alleen in de mens of aap aanwezig zijn. Om informatie te verkrijgen over de veiligheid en de effectiviteit van dit soort middelen dient het onderzoek dus te worden uitgevoerd in een diersoort nauw verwant aan de mens. De ziekte wordt opgewekt door in resus apen of marmosets een met reuma vergelijkbare immunreactie op te wekken tegen bestanddelen van de gewrichten. De dieren worden tijdens de ontwikkeling van de ziekte intensief gecontroleerd op ontstekingen en zwellingen van de gewrichten en op fysiolo-



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

gische veranderingen. Omdat de dieren last kunnen krijgen van gewrichtspijn wordt pijnbestrijding toegepast. Verder gebruiken wij een onderzoeksmethode die ook voor klinische studies in de mens gebruikt wordt. We stratificeren de dieren per groep, zodat de samenstelling van de verschillende behandelingsgroepen op herkenbare parameters zoals gewicht, leeftijd en sekse overeenkomen. Ook worden studies geblindeerd uitgevoerd, zodat de onderzoeker zo objectief mogelijk de dieren kan analyseren. Om de aantallen dieren voor dit onderzoek zo laag mogelijk te houden, worden studies waar mogelijk gebundeld, zodat we maar één controle groep nodig hebben.

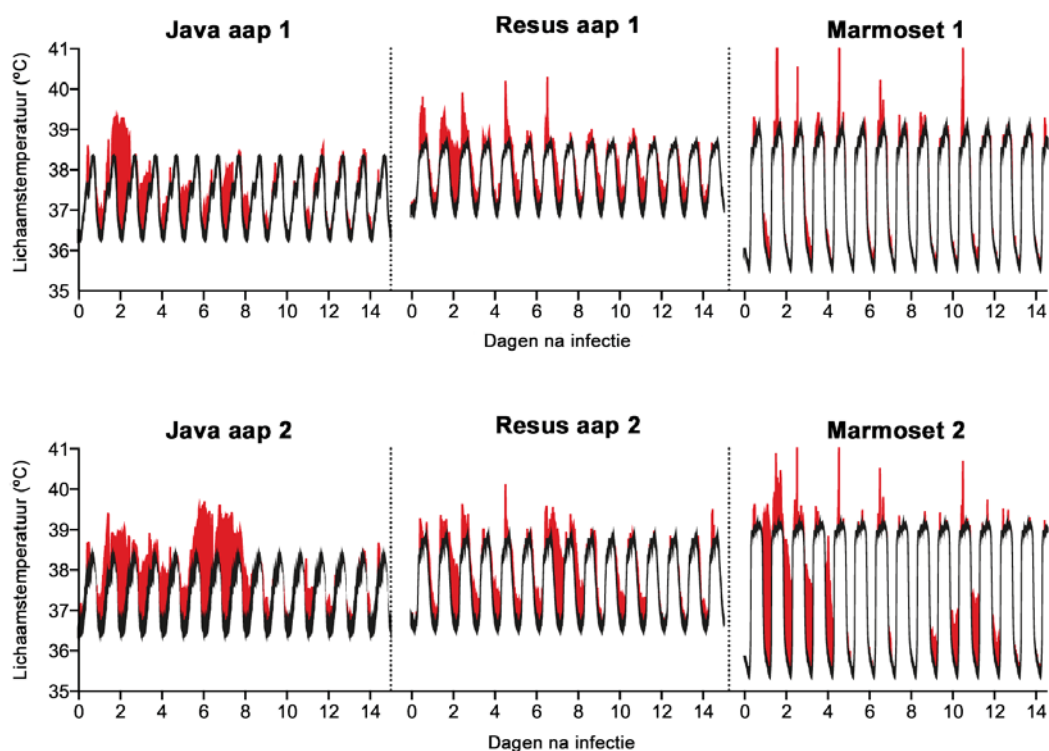
Parkinson en **Alzheimer** zijn voorbeelden van ernstige neurodegeneratieve ziektes. Door nog onbekende oorzaken sterven hierbij zenuwcellen af. Bij de ziekte van Parkinson betreft dit een speciale groep, onderin de hersenen gelegen, dopamine producerende zenuwcellen die een centrale rol spelen in de coördinatie van bewegingen. In marmosets kan Parkinson opgewekt worden met een stof (MPTP) die hetzelfde type zenuwcellen doet afsterven als in de mens. Bij Alzheimer betreft het aanvankelijk zenuwcellen die liggen in hersengebieden die betrokken zijn bij leren en geheugen, maar in latere stadia wordt het gehele brein aangetast. In beide ziektes worden ophopingen van verkeerd gevouwen eiwitten aangetroffen. Het is onduidelijk of dit de oorzaak of het gevolg van de zenuwcel sterfte is. Na het opwekken van de ziekte, worden de dieren beoordeeld op gedragsveranderingen, motorische achteruitgang en Parkinsonistische symptomen (vooral traagheid en beven). De testsystemen zijn zo gekozen dat er zoveel mogelijk gebruik gemaakt wordt van het natuurlijke gedrag van de aap, zoals de oprichtreflex en het springgedrag. In het Alzheimer model is de diagnostiek vooral gericht op cognitieve functies (leren en geheugen). Waar mogelijk worden de metingen verricht in de verblijfskooi waardoor extra stress zo veel mogelijk wordt vermeden. Stressniveaus worden bepaald aan de hand van de hoeveelheid cortisol in het haar van de dieren en blijken niet aantoonbaar veranderd door de handelingen in de studie.

De afdeling Immunobiologie is gespecialiseerd in de ziekten zoals hierboven beschreven. Er bestaan echter nog talloze andere aandoeningen van het immuunsysteem. De afdeling Immunobiologie voert ook toegepast wetenschappelijke projecten uit in samenwerking met onderzoekers uit biotechnologie en farmacie bedrijven, universiteiten of andere wetenschappelijke instellingen in binnen- en buitenland. Deze partners werken aan ziektes die niet binnen onze eigen directe interesse gebieden liggen, maar hebben een wetenschappelijke hypothese of nieuw geneesmiddel waarvan de geldigheid of werking alleen toetsbaar is in apen.



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Ook in 2013 is de afdeling **Virologie** doorgestaan met het opzetten en verfijnen van diermodellen voor bestaande en nieuw opkomende infectieziekten veroorzaakt door **influenza virus (Flu)** en **West Nile virus (WNV)**. Deze infecties veroorzaken vaak ernstige gezondheidsproblemen. Mensen in gebieden waar men leeft onder slechte hygiënische omstandigheden en mensen met een slecht of nog niet volledig ontwikkeld of onderdrukt afweersysteem zoals ouderen en (zeer) jonge kinderen zijn extra gevoelig voor deze ziektes. Doordat het afweersysteem van apen zeer sterk lijkt op dat van de mens zijn deze proefdiermodellen uitermate geschikt om niet alleen toegepast onderzoek naar vaccins of medicijnen ("werkt het?") te doen maar ook om fundamenteel onderzoek ("hoe werkt het?") te doen. We hebben in 2013 in drie verschillende apen soorten (resus apen, Java apen en marmosets) gevoeligheid en het ziekte verloop van Flu infecties bestudeerd en bepaald welke het meest de humane situatie nabootst. Op basis hiervan kunnen we bepalen welke soort het meest geschikt is voor (toekomstige) vaccin studies tegen influenza.



Lichaamstemperatuurmetingen in Java apen, resus apen en marmoset apen na MEX4487 Influenza virus infectie gemeten mbv temperatuur transponders. Weergegeven zijn de temperatuur registraties in twee dieren van elke soort tijdens de studie duur van 14 dagen (Java aap 1, Java aap 2, Resus aap 1, Resus aap 2, Marmoset 1 en Marmoset 2). Het zwarte gebied vertegenwoordigt de gemiddelde temperatuur zoals opgenomen tijdens de drie weken voor infectie (normale individuele circadiële lichaamstemperatuur). De actuele lichaamstemperatuur gemeten na influenza infectie is weergegeven in rood.

Ook voor WNV hebben we gekeken welke diersoort (resus apen of marmosets) het meest geschikt is om als model te gebruiken voor WNV vaccin studies en in 2013 hebben we dan ook de eerste vaccin studie uit kunnen voeren. Bij al de bovenstaande studies hebben we gebruik gemaakt van transponders. Dit zijn kleine meet apparaatjes die bij een dier onderhuids kunnen worden aange-



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

bracht en in de tijd zeer regelmatig bv. de temperatuur kunnen meten. Hierdoor hoeft een dier niet meer verdoofd te worden om de temperatuur te bepalen tijdens een experiment.

Bovendien wordt op deze manier een beter inzicht verkregen in het verloop van diverse ziekteprocessen en kan nauwkeuriger het effect van een nieuw medicijn of een vaccin worden vastgesteld.

Naast genoemde infectieziekten is er ook dit jaar weer onderzoek gedaan naar virale infectieziekten waar al meerdere jaren aan wordt gewerkt, nl. humaan immuundeficiëntie virus (**HIV**, de veroorzaker van AIDS) en **Hepatitis C Virus (HCV)**. In 2013 is er een nieuw potentieel HIV vaccin getest in ons goed gedefinieerde apenmodel voor HIV infecties: S(H)IV in resus apen.

In het kader van meer kennis uit minder dieren wordt nog steeds gebruik gemaakt van bloedmonsters die lang geleden zijn opgeslagen. Op het BPRC zijn tot aan 2004 verscheidene experimenten gedaan met chimpansees, met name hepatitis C en HIV-vaccin experimenten. In HIV-patiënten met AIDS verschijnselen is de permeabiliteit van de darmwand verhoogd waardoor er een hogere concentratie aan bacteriële producten terug te vinden is in het bloed en daarmee ook een verhoogde immuun activatie. Ook in personen met chronische HCV infectie zijn er aanwijzingen dat dit het geval is. Om de permeabiliteit van de darmwand te bepalen zijn een aantal verschillende testen beschikbaar dan wel in huis ontwikkeld. Testen zijn óf gebaseerd op de concentratie bacteriële producten in bloed, of meten de zogenaamde immuun activatie door deze bacteriële producten. Met behulp van real time PCR kan bijvoorbeeld de hoeveelheid 16S ribosomaal RNA bepaald worden en met ELISA kan de concentratie sCD14, LBP, I-FABP, EndoCab, IL-6 of IL2R in serum bepaald worden. De unieke collectie bloedmonsters van het BPRC geeft de mogelijkheid om meer inzicht te krijgen in ziekteprocessen in mensen en chimpansees die zijn geïnfecteerd met HCV of HIV.

Binnen de afdeling Virologie wordt veel en in toenemende mate gebruik gemaakt van cellijnen. Deze cellen van humane of dierlijke oorsprong zijn onsterfelijk (gemaakt) en kunnen zich in een kweekflesje met de juiste voedingsmiddelen blijven vermenigvuldigen. Wereldwijd is er een enorm aantal verschillende cellijnen beschikbaar voor biomedisch onderzoek met allemaal eigen, unieke eigenschappen. Dankzij moleculaire technieken kunnen bestaande cellijnen ook nog eens aangepast worden, bijvoorbeeld door er een andere receptor in te kloneren. Alleen al op de afdeling Virologie maken we gebruik van naar schatting 100 verschillende cellijnen.

Verder blijven we werken aan het verbeteren van bepaalde meettechnieken. Zo zijn er gevoelige methoden ontwikkeld om besmetting met verschillende virussen, zoals polyoma-, influenza-, en West Nile virussen te kunnen bepalen. Dit vindt plaats vanuit onze diagnostische service unit. Door deze unit is het BPRC in staat geweest om fokkolonies op te zetten die vrij zijn van bepaalde virussen en om deze ook virusvrij te houden. Dit betekent dat onze koloniedieren vrij zijn van retrovirussen als SIV, STLV en SRV, en ook van het herpes B virus. Door onze expertise bepalen wij ook de virus status van apen die gehouden worden in andere instellingen in Europa, zoals dierentuinen en onderzoekscentra. Daarnaast ondersteunen wij ook apenopvangcentra in Afrika, Azië en Zuid-Amerika.



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Binnen de afdeling **Parasitologie** wordt gewerkt aan malaria en tuberculose.

Malaria

Malaria is in veel landen nog steeds een groot probleem en er is een sterke behoefte aan nieuwe geneesmiddelen en vaccins. Naast onderzoek naar geneesmiddelen doen wij ook onderzoek naar vaccins tegen malaria. In de afgelopen jaren zijn er nieuwe, veelbelovende experimentele methodes ontwikkeld om bescherming tegen malaria op te wekken. In kleine groepen mensen is bijvoorbeeld aangetoond dat experimenteel vaccineren met levende parasieten uit de malariamug langdurige bescherming tegen besmetting kan geven. Dit gebeurt vooral wanneer de vaccinatie zo wordt uitgevoerd dat de malariaparasiet, nadat hij de lever heeft besmet, niet in het bloed kan uitgroeien. Dit gebeurt normaal gesproken wel, maar wordt voorkomen door de mensen tijdens de vaccinatie periode anti-malaria middelen te geven die alleen de bloedstadia doden en niet de leverstadia.



Muggen die een bloedmaal nemen van met malaria-geïnfecteerd apenbloed. Na zo'n 12 dagen hebben de muggen de malaria parasiet in de speekselklieren zitten en kunnen we ze gebruiken om apen te vaccineren of besmetten.

Hoe de bescherming precies werkt is in mensen lastig uit te zoeken. Dit komt onder andere omdat je geen monsters kunt nemen van belangrijke organen voor de afweer reactie zoals bijvoorbeeld de lever en de milt. In 2013 zijn we gestart met een aantal experimenten in resusapen om het mechanisme van werkende, en van falende, vaccins te achterhalen. Deze kennis is heel belangrijk omdat hiermee experimentele vaccins kunnen worden verbeterd voordat ze op grotere schaal in mensen getest gaan worden. We gebruiken resusapen omdat die nauw verwant zijn aan de mens en omdat ze de natuurlijke gastheer zijn van malariaparasieten, die ook de mens kunnen infecteren. In één zo'n experiment worden apen gevaccineerd met malariaparasieten, terwijl ze voortdurend



anti-malaria medicijnen krijgen. Als deze dieren dan vervolgens beschermd blijken te zijn tegen een experimentele malaria infectie (zonder dat er medicijnen gebruikt worden), nemen we monsters van belangrijke organen om in detail de afweerreactie in die organen te bestuderen. In dat geval worden de apen geëuthanaseerd, om een zo compleet mogelijk beeld van de reacties in alle belangrijke organen te verkrijgen.

In een ander experiment toetsen we de hypothese dat de veelvuldige natuurlijke infecties via de huid bij mensen die leven in gebieden waar malaria van nature voorkomt er voor zorgt dat zij tolerant worden voor malaria vaccins die daardoor niet meer werken. In dit experiment worden resusapen op verschillende manieren blootgesteld aan malaria parasieten, waarna bekeken wordt of ze beschermd zijn tegen natuurlijke infectie. De afweerreactie in het bloed wordt bestudeerd en de apen worden weer genezen met standaard anti-malaria medicijnen, waarna ze terug keren naar de kolonie.

Tuberculose (TB)

Omdat de infectiegraad - met naar schatting 2 miljard geïnfecteerden - en de sterfte ten gevolge van tuberculose infectie - met circa 1,5 miljoen slachtoffers per jaar – een voortdurende last voor de wereldgezondheid zijn, en omdat geneesmiddelen in de vorm van antibiotica beperkt effectief zijn tegen deze bacteriële infectieziekte, blijft onderzoek naar een verbeterd vaccinatie protocol een prioriteit van de hoogste orde. Het huidig beschikbare vaccin (BCG) geeft sterk wisselende bescherming in verschillende bevolkingsgroepen en is niet voor iedereen veilig. De afdeling Parasitologie levert middels toegepast onderzoek een bijdrage aan de ontwikkeling van betere vaccinatie strategieën tegen tuberculose.

Het ontwikkelen van een nieuw vaccin tegen TB is om verscheidene redenen niet eenvoudig. De grootste belemmering is waarschijnlijk wel het gebrek aan inzicht in het mechanisme van afweer (immunitet) dat noodzakelijk en voldoende is om een mens tegen de bacterie te beschermen. Er zijn (nog) geen voorspellende (immunologische) eigenschappen voor de werking van een effectief vaccin vastgesteld en evenmin weten we waarom sommige mensen van nature niet ziek worden na blootstelling. Daarom zal in de loop van het ontwikkelingsonderzoek een vaccin eenvoudigweg uitgeprobeerd moeten worden. Omdat dergelijk klinisch vaccin onderzoek enorm tijdrovend is, experimentele besmetting van mensen vanwege de ernst van deze potentieel dodelijke ziekte uitgesloten is, en slechts weinig plekken op de wereld toegerust zijn om zulke veeleisende studies uit te voeren, zijn onderzoekers noodgedwongen aangewezen op het gebruik van diermodellen.

Tot op heden weet niemand met zekerheid welk proef(dier)model het best voorspelt hoe een TB vaccin zich in de kliniek zal gedragen. Wat we wel weten, is dat apen in vele opzichten op mensen lijken, van nature gevoelig zijn voor infectie met TB bacteriën, en een ziekteproces doormaken dat zeer sterk zo niet volledig overeenkomt met TB bij de mens. Op die gronden gebruiken wij apen, en dan



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

met name (resus) makaken, als een relevante schakel in de ontwikkeling van een beter TB vaccin als ook in het vergroten van onze kennis over het ziekteproces en het afweersysteem van de gastheer.

Wij houden de besmettingsfase in deze modellen zo kort mogelijk en meten gaandeweg diverse (klinische) waardes om het ziekteproces en het behandel-effect zo nauwkeurig mogelijk in kaart te brengen in zo klein mogelijke diergroepen. Het ongerief wordt strikt bewaakt tijdens de besmettingsfase. Om ernstiger ongerief te voorkomen, hanteren we (voortijdige) humane eindpunten in voorkomende uitzonderlijke gevallen.

In het jaar 2013 richtte ons onderzoek zich voornamelijk op het verbeteren van ons TB model door de gevoeligheid voor besmetting in chinese versus indiaase resusapen te vergelijken. Wij bestudeerden de reacties in deze verschillende diergroepen na BCG vaccinatie en na tuberculose infectie en hopen daarmee uiteindelijk vitale elementen van bescherming te ontdekken. Bovendien hebben we kunnen aantonen dat toediening van het BCG vaccin via de luchtwegen – daar waar het in de mens standaard via de huid wordt toegediend – goed verdragen werd en de weefselschade in de longen aanzienlijk verminderde in vergelijking tot de standaard toedieningsroute. Uit proeven met nieuw ontwikkelde TB vaccins is een bemoedigend beschermend resultaat verkregen met een synthetisch TB eiwit (subunit) vaccin dat verder voor klinisch onderzoek ontwikkeld zal worden.

In de afdeling **Vergelijkende Genetica en Verfijning (CG&R)** wordt de genetische achtergrond van verschillende apensoorten onderzocht.

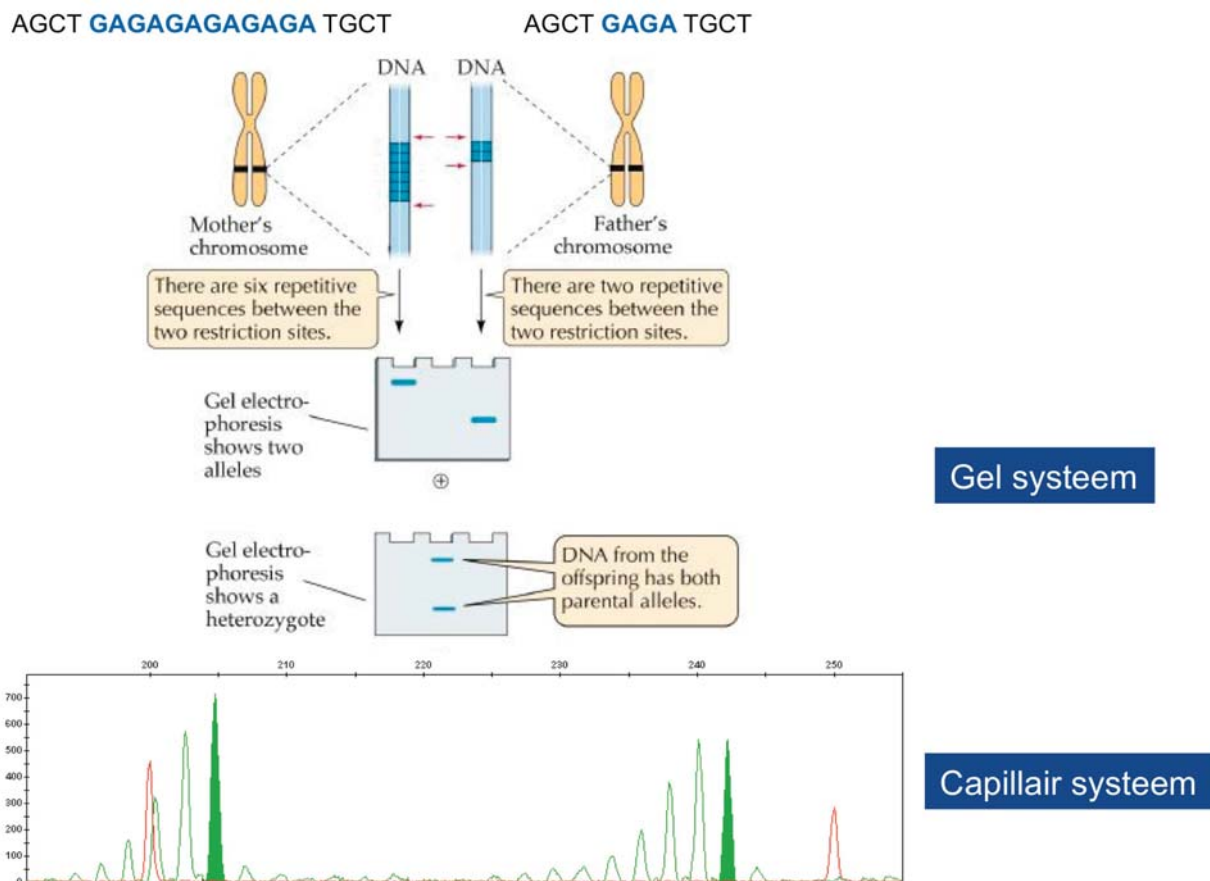
Het bepalen van de genetische kenmerken door middel van moleculair onderzoek draagt bij aan een goed beheer van de fokkolonies binnen het BPRC met name door het bepalen van ouderschappen en genetische variabiliteit. Voor het genetisch onderzoek is een zeer geringe hoeveelheid bloed nodig die kan worden afgenomen bij de jaarlijkse gezondheidscontroles van de apen. Uit deze bloedmonsters wordt het erfelijk materiaal (ofwel DNA) geïsoleerd. DNA moleculen zijn lange ketens die worden gevormd door chemische bouwstenen (nucleotiden) bestaande uit vier verschillende basen. De volgorde van deze vier basen varieert per individu.

Een veel toegepaste techniek binnen de afdeling is de microsatelliet analyse. Microsatellieten zijn herhalingen van 2 tot 6 basen, waarvan het aantal herhalingen kenmerkend en erfelijk overdraagbaar zijn. Microsatellieten komen op alle chromosomen veelvuldig voor. Het typeren van microsatellieten op verschillende chromosomen maakt deze techniek uitermate geschikt voor ouderschapsbepalingen. Verder wordt binnen de afdeling CG&R onderzoek verricht aan de genen van het major histocompatibility complex (MHC). Een gen is een specifiek deeltje DNA dat binnen de lichaamscel wordt vertaald naar een eiwit. In feite zijn het eiwitten die alle chemische processen binnen de cel besturen. MHC eiwitten spelen een belangrijke rol in de herkenning van bacteriën, virussen en parasieten. De variatie van MHC genen en eiwitten binnen de populatie leidt tot verschillen in gevoeligheid voor



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

allerlei ziekten. Omdat de MHC genen zo variabel zijn kunnen microsatelliet bepalingen van deze genen goed worden gebruikt om de genetische variabiliteit binnen de resus en Java aap kolonies vast te stellen en inteelt te voorkomen. Deze variabiliteit maakt het mogelijk om ook in toekomst over apen te beschikken voor onderzoek naar verschillende - en nog onbekende - ziekteverwekkers. Daarmee wordt gewaarborgd dat de juiste apen voor een bepaald onderzoek geselecteerd worden. Dit leidt tot minder proefdiergebruik met betere en efficiëntere resultaten.



Microsatellietanalyse. Short tandem repeats (STR) zijn stukjes DNA die bij ieder individu verschillend zijn in lengte. In dit figuur heeft de moeder bijv een STR van 6 nucleotiden NT en de vader een STR van 2 nucleotiden. Door het DNA te amplificeren middels PCR en dit produkt op een gel te brengen en te scheiden kunnen de 2 verschillende aanwezige STR lengtes onderscheiden worden. De langste STR vindt men boven en de kortste STR onder in de gel. Tegenwoordig is dit process verder geautomatiseerd, waarbij de gel een capillair is geworden en de STR groottes nu zichtbaar zijn met behulp van een piekpatroon. De STR groottes zijn de laatste en hoogste pieken van een serie zogenoemde "stotterpieken".



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Binnen de **Unit Alternatieven** wordt wetenschappelijk onderzoek verricht met als doel het vervangen, verminderen of verfijnen (de drie V's) van dierexperimenteel onderzoek. Het onderzoek binnen de Unit Alternatieven is georganiseerd langs twee hoofdlijnen. Voor beide hoofdlijnen is in 2010 steun verworven van de Europese Unie, waarvoor de Unit binnen het kader van EUPRIM-NetII het onderzoek naar alternatieven voor primaten coördineert. Daarnaast fungeert de Unit Alternatieven als centrale communicatiebron voor de onderwerpen die te maken hebben met alternatieven voor dierproeven binnen het BPRC en wordt er actief bijgedragen aan het publieke debat over dierproeven en de alternatieven daarvoor. Dit gebeurt mede middels publicatie van dit proefdierkundig jaarverslag.

De eerste onderzoekslijn is gericht op verfijning van dierexperimenteel onderzoek binnen het instituut. Om het immuunsysteem extra te activeren wordt er bij mensen en proefdieren vaak gebruik gemaakt van hulpstoffen (adjuvantia). Helaas gaat het injecteren van adjuvantia vaak gepaard met ongewenste bijwerkingen zoals ontstekingen van de injectieplaatsen. Binnen de Unit wordt op verschillende manieren gewerkt aan de ontwikkeling van nieuwe adjuvantia met vergelijkbare immuunstimulerende werking maar met minder of geen bijwerkingen.

Om de gewenste immuun-stimulerende effecten van adjuvantia te modelleren hebben we in de Unit *in vitro* bioassays ontwikkeld op basis van menselijke cellijnen. Om de ongewenste bijwerkingen van adjuvantia te modelleren hebben wij in de afgelopen jaren een *in vitro* kweekmodel opgezet waarvoor menselijk bloed gebruikt wordt. *In vitro* methoden zijn proeven in het lab in plaats van proeven in een dier, die ingezet kunnen worden om experimenten met levende dieren te vervangen of te verminderen. Beide technieken zijn dus volledig proefdiervrij en worden uitvoerig gebruikt in top-down en bottom-up benaderingen. Bij de top-down benadering nemen we een oorspronkelijk adjuvant als uitgangspunt en proberen we in dat adjuvant kleine veranderingen aan te brengen om zodoende de onwenselijke bijwerkingen te verminderen. Bij de bottom-up benadering is het oorspronkelijke adjuvant in zeer kleine onderdelen opgesplitst en worden deze onderdelen allen eerst afzonderlijk in bioassays getest op de gewenste immuun-stimulerende activiteit. Onderdelen die actief zijn zouden dan in de toekomst als basisbouwstenen voor een nieuw adjuvant gebruikt kunnen worden.

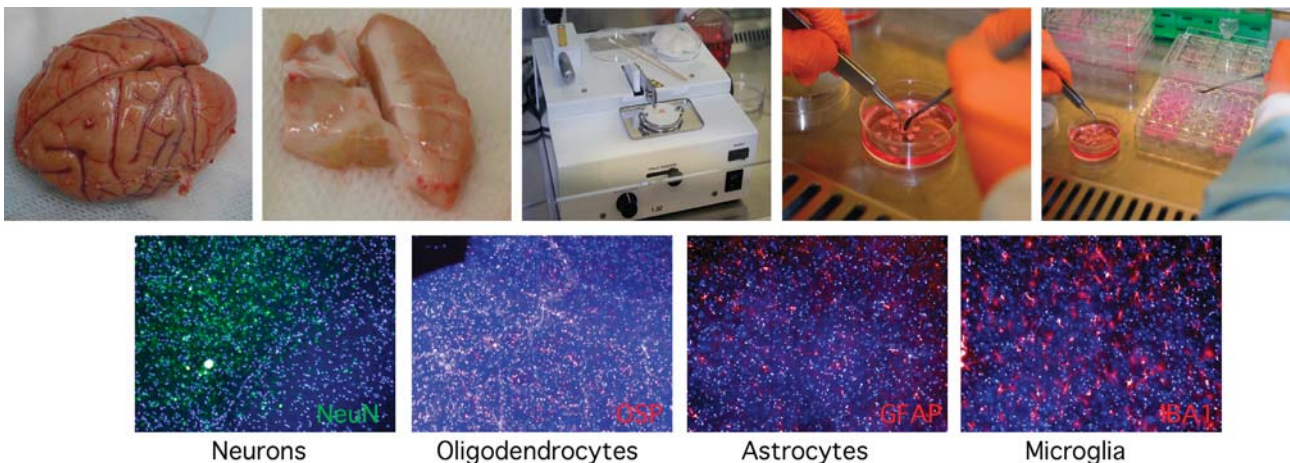
De tweede onderzoekslijn is gericht op het ontwikkelen van nieuwe *in vitro* methoden. Veel teststoffen of therapeutische strategieën hebben effecten op bepaalde celtypen. Door kweekmethoden op te zetten voor deze celtypen (door primaire celkweek of stamcel technologie) kunnen kandidaat teststoffen of strategieën voordat ze eventueel in een proefdier getest zouden worden op deze celkweken getest worden op werkzaamheid. Binnen het Instituut wordt dit de *pre in vivo* testfase genoemd en zijn hiermee al verschillende kandidaat stoffen uitgeselecteerd waardoor er minder dierproeven nodig waren.



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Celkweken worden opgezet vanuit bloed of stukjes dierlijk of menselijk materiaal verkregen uit biop-ten of van donoren. Belangrijk daarbij is dat er nooit dieren specifiek geofferd worden voor de start van deze kweken, maar dat er altijd sprake is van dieren die vanwege ouderdom of beëindiging van een ander experiment geëuthanaseerd zijn. In tegenstelling tot het werk met cellijnen zijn deze kweeksystemen vaak kortdurend en eindig. Toch hebben deze primaire celkweken vaak een betere voorspellende waarde dan cellijnen en is het dus de tijd en moeite waard om deze bij herhaling op te zetten. Het belangrijkste voordeel van cellijnen, hun onsterfelijkheid, is namelijk tevens hun belangrijkste nadeel. Onsterfelijke cellijnen verliezen na verloop van tijd hun cel-specifieke eigenschappen en lijken dan nog het meest op tumorcellen waardoor het testen van bepaalde ideeën of behandelingsmethoden niet goed meer mogelijk is.

Wij hebben technologie ontwikkeld die het mogelijk maakt om met name cellen uit het centraal zenuwstelsel (astrocyten en microglia) alsmede cellen die een belangrijke rol spelen in het immuunsysteem (macrofagen en dendritische cellen opgekweekt uit bloed en beenmerg) op te kweken. Onderzoek heeft vorig jaar belangrijke verschillen aan het licht gebracht in hoe deze verschillende celtypen met ontstekingsreacties omgaan. Daarnaast hebben we veel tijd en energie gestoken in het opzetten van een kweekstelsel waarbij we zeer dunne plakjes hersenweefsel in kweek brengen en houden, zogenaamde *organotypische* kweken. Ultiem doel is om de diermodellen uiteindelijk geheel te kunnen vervangen door *in vitro* methoden.



Organotypische kweek van hersenweefsel. De bovenste panelen laten zien hoe het weefsel zorgvuldig opgewerkt wordt om zeer dunne plakjes te kunnen snijden die uit verschillende neuronale lagen van de cortex bestaan. De onderste panelen laten de aanwezigheid zien van bepaalde celtypen die typisch zijn voor de hersenen zoals neuronen, oligodendrocyten, astrocyten en microglia. De aanwezigheid van deze celtypen wordt bepaald met behulp van antilichaam gebaseerde kleuringen, waardoor de celtypen specifiek fluorescent (in rood of groen) aantoonbaar zijn. In blauw zijn alle celkernen zichtbaar gemaakt.



Uitgelicht: Investering in verfijning levert een relevanter diermodel op

Onze kennis van het afweersysteem, door onderzoekers als immuunsysteem aangeduid, is in de afgelopen eeuw enorm gegroeid. Proefdieren hebben een belangrijke rol gespeeld in het onderzoek. In de vroege jaren van de immunologie, de tak van wetenschap die zich bezighoudt met het immuunsysteem, werd een grote verscheidenheid aan diersoorten gebruikt. Tegenwoordig worden vooral muizen gebruikt. Om de kans op variatie tussen experimenten te minimaliseren worden muizenstammen met minimale genetische diversiteit onder zeer schone condities (specifiek pathogeen vrij (SPF)) gefokt. Deze ingeteelde SPF muizen zijn van onschatbare waarde gebleken voor ons huidige begrip van het immuunsysteem, zowel in een gezond lichaam als bij ziekte. Echter bij de vertaling van nieuwe kennis van een ziekte naar een effectieve behandeling gaat het regelmatig mis. Dit is vooral het geval bij ziektes die veroorzaakt worden door het immuunsysteem zelf, de zogenaamde autoimmuunziekten. Circa 90% van de nieuwe geneesmiddelen die veelbelovende resultaten lieten zien in diermodellen, sneuvelt bij klinische tests vanwege onverwachte bijwerkingen of gebrek aan werkzaamheid. Wat is hier aan de hand?

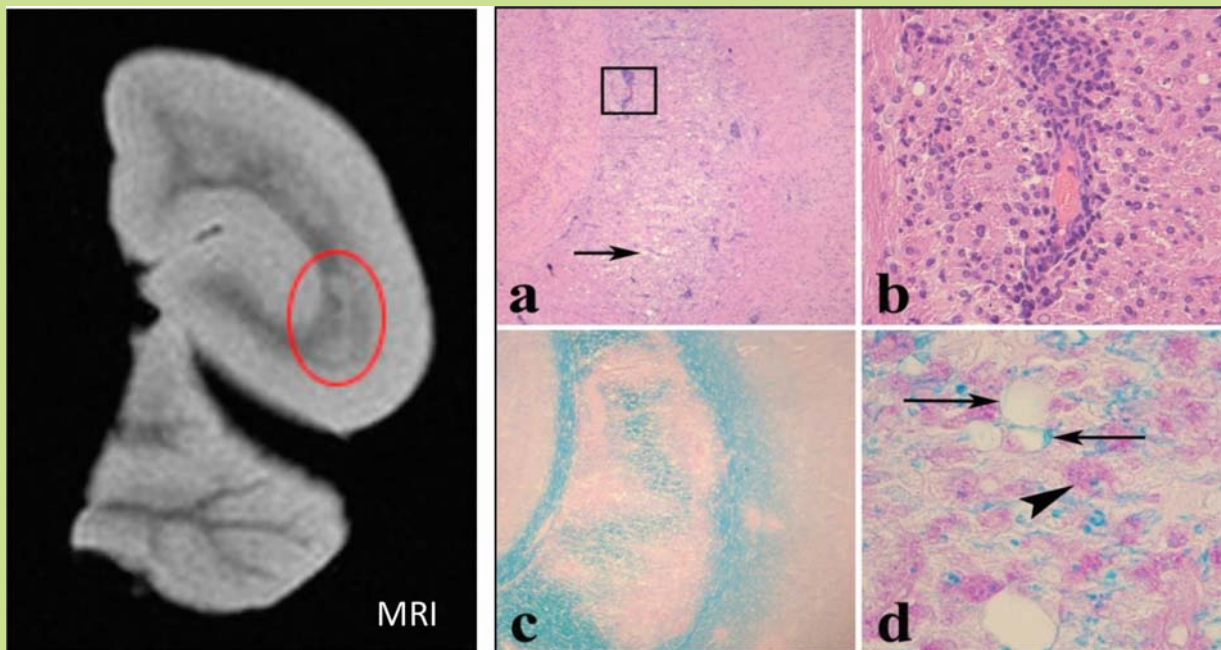
De ingeteelde SPF muis blijkt vaak een ziektemodel met een slechte voorspellende waarde voor het effect van een nieuwe behandeling in de patiënt. Het is misschien ook niet verbazingwekkend dat er belangrijke immunologische verschillen zijn tussen een 12 weken oude ingeteelde en in een steriele omgeving gefokte laboratorium muis en een volwassen mens van zeg 40 jaar, die dagelijks blootgesteld is aan ziekmakende bacteriën, virussen en parasieten. De consequenties van het verschil in leefomgeving voor het functioneren van het immuunsysteem blijkt duidelijk uit een vergelijking van ziektemodellen in muizen en apen, de nauwste verwanten van de mens.

Experimenteel-geïnduceerde encephalomyelitis (EAE) is een model voor autoimmuunziekten, gebaseerd op de neurologische autoimmuunziekte multipele sclerose (MS). Evenals in de patiënt wordt door een aanval van het immuunsysteem schade aangericht in de hersenen en het ruggenmerg. Het doelwit van de aanval is de myelineschede, de isolatielaag rond de zenuwbanen. Uit onderzoek in muizen en apen is gebleken dat met name het myeline-eiwit MOG van belang is voor het opwekken van de ziekte. Het ziektemodel EAE wordt opgewekt door insputting in de huid van het proefdier van een oplossing van MOG in water, gemengd met de hulpstof Compleet Freund's Adjuvant (CFA). CFA is een mengsel van minerale olie en door verhitting gedode bacteriën. De fijne verdeling van kleine waterdruppeltjes in de olie zorgt



voor een langzame afgifte van het eiwit. De bacteriën zorgen voor een krachtige stimulatie van het immuunsysteem. In muizen is duidelijk aangetoond dat zonder deze krachtige stimulatie geen EAE ontstaat. Integendeel, inspuiting van MOG gemengd met alleen de olie (het zgn. Incompleet Freund's Adjuvant; IFA) maakt de muizen resistent tegen de ziekte. De bacteriën zorgen echter ook voor ernstige ontstekingen in de huid, wat aanzienlijk ongerief aan de dieren bezorgt.

Wij hebben gevonden dat in marmoset aapjes door inspuiting van een klein fragment van MOG, een zgn. peptide, gemengd met IFA een sterk op MS lijkend ziektebeeld kan worden opgewekt. Het model lijkt niet alleen in de klinische en pathologische presentatie sterk op MS, maar ook in de reactie op behandeling met monoclonale antistoffen en heeft daarmee een betere voorspellende waarde. Deze verfijning levert dus dubbel voordeel op. Voor het dier, omdat het dier geen last meer heeft van de ernstige ontstekingen van de huid. Voor de onderzoeker omdat hij/zij een diermodel heeft dat relevanter lijkt voor de ziekte MS.



Inspuiting van een fragment van humaan MOG (de sequentie 34 tot 56) gemengd met minerale olie (IFA) induceert op MS gelijkende lesies in de witte stof van het brein. Op het MRI plaatje (links) zijn deze lesies goed zichtbaar. Histologisch onderzoek van de rood-omcirkelde lesie toont het verlies van myeline (c,d) en de aanwezigheid van ontstekingshaardjes in de lesie (a,b).



DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

Openheid en communicatie

Naast het inpassen van de drie **V** principes binnen de eigen organisatie participeert het BPRC ook in verschillende (inter)nationale gremia die zich bezighouden met proefdiergebruik. BPRC dierverzorgers, dierenartsen en ethologen nemen actief deel aan verschillende (inter)nationale meetings en congressen waarbij ervaringen met vakgenoten uitgewisseld worden en zijn actief betrokken bij organisaties zoals de Biotechnische Vereniging, de Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde, en Europese Vereniging voor dierenartsen. Door het uitwisselen van ervaringen met vakgenoten kunnen methoden en protocollen van verschillende instituten op het gebied van voeding, huisvesting en verzorging gestandaardiseerd worden en wordt een belangrijke bijdrage geleverd aan de drie **V**'s.

Door het geven van rondleidingen, open dagen en voorlichtingen probeert het BPRC zo transparant mogelijk te zijn. Vanzelfsprekend kan dit alleen met inachtneming van het waarborgen van de veiligheid en gezondheid van dier en mens. Het BPRC biedt studenten de mogelijkheid om hun (afstudeer)stage op het BPRC uit te voeren. Studenten van VMBO, MBO, HBO en Universiteiten maken hiervan veelvuldig gebruik. Verder worden er regelmatig rondleidingen verzorgd aan geïnteresseerden, zoals scholieren en studenten. Daarnaast geeft het BPRC workshops op vaktechnische gebieden. In 2013 heeft het BPRC in samenwerking met Animal Concepts een internationale workshop gehouden over diertraining en het belang hiervan. Verder verschaft het BPRC op verzoek informatie aan de Stichting Informatie Dierproeven (www.stichtinginformatiedierproeven.nl), levert het sprekers voor debatten over proefdiergebruik, en is het hoofd van de Unit Alternatieven sinds 2010 lid van de redactieraad die de brochure "Dierproeven: Zo doen ze dat!" op inhoud toetst.

Internationaal heeft het BPRC een actieve rol in de initiatieven die georganiseerd worden door het UK National Centre for 3Rs (NC3Rs: www.nc3rs.org.uk) om het gebruik van alternatieven te stimuleren.

