

Proefdierkundig jaarverslag 2011

A photograph of a pig standing in a narrow wooden crate. The pig is light pink with a blue mark on its face. It has a yellow tag on its ear. The crate is made of dark wood and has a metal bar across the front.

*Met bijzondere aandacht
voor het varken*

Over de rol van dierproeven in het wetenschappelijk onderzoek en onderwijs
van het Universitair Medisch Centrum Utrecht en de Universiteit Utrecht

Colofon

Titel: Proefdierkundig jaarverslag 2011 met bijzondere aandacht voor het varken
Uitgave 2012, Universitair Medisch Centrum Utrecht en Universiteit Utrecht.
p/a Universitair Medisch Centrum Utrecht
Huispost D01.343
Heidelberglaan 100
3584 CX Utrecht

Redactie

Anita Nieuwenhuis, Universiteit Utrecht
Jolanda B. van Luipen, UMC Utrecht
Harry Blom, proefdierdeskundige
Jan van der Valk, 3V-Centrum Utrecht Life Sciences

Foto's

Thomas Dobber
Joop Fama
Onno van der Veen
Lisanne van de Voort
en Jan van der Valk

Ontwerp en layout

Tjerk Zweers, Zweers Creatives

Contact

Anita Nieuwenhuis, a.nieuwenhuis@uu.nl

© Universitair Medisch Centrum Utrecht en Universiteit Utrecht.
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd,
opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in
enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopiëren,
opnamen of op enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijk toestemming
van de uitgever.

Proefdierkundig jaarverslag 2011

Met bijzondere aandacht voor het varken

Over de rol van dierproeven in het wetenschappelijk onderzoek en onderwijs
van het Universitair Medisch Centrum Utrecht en de Universiteit Utrecht



Inhoudsopgave

Voorwoord 1

Hoofdstuk 1: Inleiding

1.1 Waarom dit jaarverslag 3

1.2 Wat doen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht. 5

1.3 Focus op het varken 9

Hoofdstuk 2: Waarom het varken als thema voor dit jaarverslag

2.1 Het varken als nutsdier11

2.2 De bruikbaarheid van het varken voor onderzoeksdoeleinden12

2.3 Het varken als proefdier ten behoeve van de intensieve varkenshouderij13

2.4 Het varken als proefdier ten behoeve van het biomedisch onderzoek13

2.5 Het varken als proefdier voor het oefenen van praktische vaardigheden15

2.6 Huisvesting en verzorging van varkens die worden ingezet als proefdier.16

2.7 Ethische aspecten van het gebruik van varkens als proefdier17

Hoofdstuk 3: Voorbeelden van dierproeven met varkens

3.1. Onderzoek naar hart- en vaatziekten.19

3.2 Onderwijs en training van medisch specialisten en dierenartsen in opleiding37

3.3 Onderzoek naar infectieziekten en het afweersysteem43

3.4 Onderzoek naar skeletaandoeningen50

3.5 Onderzoek naar welzijn en gedrag52

Bijlage A1: Over het werken met proefdieren door medewerkers UMC Utrecht en Universiteit Utrecht61



Voorwoord

Voor u ligt het derde gezamenlijke proefdierkundig jaarverslag van het Universitair Medisch Centrum Utrecht en de Universiteit Utrecht. Het varken speelt al heel lang een rol in de geneeskunde. In de 11e eeuw na Christus werd de Orde van St. Antonius opgericht die zich toelagde op de ziekenzorg. De orde bouwde in Europa veel ziekenhuizen en verwierf in veel landen het recht om varkens te houden. In die tijd behandelde de orde onder andere ergotisme, ook wel St. Antoniusvuur genoemd, een ziekte veroorzaakt door het eten van inferieur, met gifstoffen besmet graan. De behandeling bestond uit het eten van varkensvlees en een behandeling van compressen met varkensvet. De Antoniusvarkens die hiervoor werden gebruikt, droegen bellen en scharrelden door de straten van de steden en werden gevoed door de burgerij. Deze vorm van varkenshouderij is eeuwenlang de belangrijkste bron van inkomen geweest van deze orde.

Naast vleesvarken is het varken ook een veel gebruikt proefdier. Galenus (eerste eeuw na Christus), lijfarts van de Romeinse keizer Marcus Aurelius, voerde al experimenten uit met varkens, omdat hij hun organen zoveel op die van mensen vond lijken. Eeuwen later werd het varken gebruikt voor anatomielessen en het was in 1922 dat voor het eerst insuline uit de alvleesklier van het varken werd gebruikt voor de behandeling van suikerziekte.

Ook het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht voeren experimenten uit met varkens, soms in het belang van de varkenshouderij en het dierwelzijn van het varken zelf, maar vaker in het belang van de humane geneeskunde. In dit jaarverslag voorbeelden van beide.

In dit verslag treft u, naast uitgebreide informatie over dierproeven waarbij specifiek varkens betrokken zijn, de algemene cijfers over het totaal aantal uitgevoerde dierproeven aan en het aantal gebruikte proefdieren van beide organisaties in 2011. Het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht werken nauw met elkaar samen en zijn gelijkgezind als het gaat om openheid rondom proefdieren en dierproeven. Dierproeven worden in onze maatschappij nog altijd onmisbaar geacht, maar worden niet door iedereen zonder meer geaccepteerd. Beide instellingen vinden het daarom van groot belang uit te leggen waarom en welke soort dierproeven er plaatsvinden, welke dieren hiervoor worden ingezet en welke consequenties de dieren hiervan ondervinden.

Ik hoop dat beide organisaties met dit verslag wederom een positieve bijdrage leveren aan de discussie over openheid rondom dierproeven.

Prof.dr. F. Miedema

Decaan en vice-voorzitter Raad van Bestuur UMC Utrecht

1

Hoofdstuk 1

Inleiding

1.1 Waarom dit jaarverslag

Openheid en transparantie

De basis voor dit proefdierkundig jaarverslag is de Code Openheid Dierproeven die in april 2008 door de KNAW, VSNU en NFU is ondertekend. De vergunninghouders van het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMC Utrecht) en de Universiteit Utrecht ondersteunen dit initiatief van harte en hebben in het verleden al een start gemaakt met het geven van meer openheid over dierproeven door onder andere van al het onderzoek en onderwijs met proefdieren een lekensamenvatting te laten opnemen in het openbare jaarverslag van de Dierexperimentencommissie (DEC). Ook het departement Dier in Wetenschap en Maatschappij van de Universiteit Utrecht gaat al jaren de dialoog met de samenleving aan over nut en noodzaak van inzet van proefdieren ten behoeve van onderzoek en onderwijs.

Aangezien het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht intensief samenwerken op dierexperimenteel gebied, is ervoor gekozen om één proefdierkundig jaarverslag te maken.

Het ethisch dilemma

Gezondheid van mens en dier staan hoog in het vaandel van het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht. Om de veiligheid van ons dagelijks leven te waarborgen en om de kwaliteit van leven van, met name, zieke mensen en dieren te verbeteren, wordt veel onderzoek gedaan. Een gedeelte van dat onderzoek vindt plaats aan proefdieren als model voor de mens en het dier. Dat de dieren hierbij lijden, is soms onvermijdelijk en tevens een groot dilemma. Het uitgangspunt is dat we respect voor

dieren hebben en dat de dieren een intrinsieke waarde hebben. Dierproeven mogen alleen worden gedaan in uitzonderlijke situaties, als het niet anders kan, als het minimaal mogelijk aantal dieren wordt gebruikt en als het ongerief voor het proefdier zo klein mogelijk wordt gehouden. Het is wettelijk verplicht dat een DEC voor het uitvoeren van een dierproef controleert of al deze aspecten in het onderzoeksvoorstel zijn verwerkt. Alleen wanneer het voorstel door de DEC is voorzien van een positief advies, mag het dierexperiment daadwerkelijk worden uitgevoerd. Daarbij mag de onderzoeker niet afwijken van het door de DEC beoordeelde onderzoeksvoorstel.

Waarom vindt het UMC Utrecht het in bepaalde gevallen gerechtvaardigd dat in het kader van onderwijs en onderzoek dieren worden ingezet?

In de dagelijkse praktijk stuiten wetenschappers en artsen van het UMC Utrecht geregeld op zaken die nader onderzoek behoeven of op zaken, bijvoorbeeld nieuwe operatietechnieken, die geoefend moeten worden. Veel onderzoek en onderwijs in het UMC Utrecht vindt plaats aan mensen (patiënten of vrijwillige gezonde mensen). In de praktijk blijkt dat ook het gebruik van dieren onvermijdelijk is, omdat het, vanwege de onzekerheid over de effecten, ethisch niet verantwoord wordt gevonden om bijvoorbeeld nieuwe geneesmiddelen of nieuwe hulpmiddelen direct aan de mens aan te bieden. Dierproeven helpen ons om kennis te ontwikkelen over hoe mensen (en dieren) functioneren en het draagt bij aan de preventie, diagnose en behandeling van ziekten. Dierproeven zijn voor alle patiënten in het UMC Utrecht onmisbaar gebleken. Dierproeven zijn verder wettelijk verplicht om de werkzaamheid en veiligheid van nieuwe stoffen, bijvoorbeeld medicijnen of voedingsmiddelen, aan te tonen voordat deze stoffen aangeboden mogen worden aan mensen. Daarnaast moeten ook artsen en biomedisch onderzoekers worden opgeleid. Ook hiervoor worden proefdieren gebruikt. Het UMC Utrecht verricht voor al deze doeleinden jaarlijks ongeveer zestien-duizend dierproeven.

Waarom vindt de Universiteit Utrecht het in bepaalde gevallen gerechtvaardigd dat in het kader van onderwijs en onderzoek dieren worden ingezet?

Dierproeven dragen bij aan onze kennis over het ontstaan van ziekten en de bouw en functie van dier en mens. Dit onderzoek draagt tevens bij aan de preventie, diagnose en behandeling van aandoeningen en bevordering van het welzijn van dieren en mensen. Het gebruik van proefdieren lijkt op het eerste gezicht op gespannen voet te staan met een deel van de missie van de Universiteit Utrecht, namelijk het bevorderen van diergezondheid en dierwelzijn. Met name de faculteit Diergeneeskunde treedt op als bemiddelaar tussen dier en mens. Enerzijds door de behoeften van het dier duidelijk te maken aan de mens en anderzijds door rekening te houden met de behoeften van de mens bij het houden en het gebruik van dieren. Dit geldt ook voor proefdieren.

Echter, het gebruik van proefdieren is nodig om toekomstige onderzoekers en beroepsbeoefenaars in de levenswetenschappen goed voorbereid en opgeleid de praktijk in te laten gaan. De universiteit kan deze groep studenten de kennis en modernste technieken bijbrengen die noodzakelijk zijn in de latere beroepsuitoefening om onderzoeksmethoden te ontwikkelen ter vervanging van dierproeven, ter vermindering van het aantal benodigde proefdieren en ter verfijning van onderzoekstechnieken zodat proefdieren minder ongerief ondervinden. Ongeveer 20% van het totaal aantal dierproeven dat wordt uitgevoerd door de Universiteit Utrecht is noodzakelijk voor de opleiding van (dieren) artsen en biomedisch onderzoekers.

1.2 Wat doen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht

Kernactiviteiten UMC Utrecht in relatie tot dierexperimenteel onderzoek en onderwijs

Het UMC Utrecht is een publieke instelling met drie kerntaken: onderzoek, onderwijs en patiëntenzorg. Het wetenschappelijke onderzoek strekt zich uit van basaal en preklinisch via translationeel tot klinisch. Tevens wordt onderzoek naar de structuur en het functioneren van de zorg verricht.

Het onderwijs wordt gegeven aan bij de Universiteit Utrecht ingeschreven studenten Geneeskunde of Biomedische Wetenschappen, aan verpleegkundigen en andere zorgverleners die tevens een relatie hebben met een ROC- of HBO-instelling, aan artsen in opleiding tot specialist (AIOS), aan verpleegkundigen en andere zorgverleners in de eigen vervolgopleidingen en aan professionals ten behoeve van na- en bijscholing.

De patiëntenzorg richt zich op patiënten die toppreferente en topklinische zorg nodig hebben. Een aanzienlijk deel van de patiënten komt voor basisspecialistische zorg die ten dienste staat van onderwijs en onderzoek.

Nieuwe ontwikkelingen in 2011 in onderzoek en onderwijs

In 2009 richtte de Raad van Bestuur zich op de ontwikkeling van een nieuwe vijfjaarsstrategie. Dit leidde tot de keuze van zes speerpunten waarop het UMC Utrecht in 2015 nationaal en internationaal toonaangevend wil zijn: Circulation, Stem Cells and Regenerative Medicine, Cancer, Immunity and Infection, Brain en Child Health. Binnen het onderzoek krijgen de speerpunten voorrang. De behoefte van de patiënt en de maatschappij ('clinical need') is leidend voor de keuzes die gemaakt worden. Elke vorm van onderzoek moet vooruitgang opleveren voor de patiënt en de maatschappij. Strategische investeringen worden ingezet op de speerpunten. Dat geldt dus ook voor het proefdiergerelateerde onderzoek.

Voor het onderwijs in het UMC Utrecht zal de nieuwe strategie geen fundamentele veranderingen met zich meebrengen. Het is de ambitie van het UMC Utrecht dat zij na 2015 bekend staat als een instelling waar onderwijs, patiëntenzorg en onderzoek cruciale factoren vormen. Proefdieren zullen, alleen waar noodzakelijk, ook ingezet blijven worden voor het onderzoek en onderwijs.

Kernactiviteiten Universiteit Utrecht in relatie tot dierexperimenteel onderzoek en onderwijs

De Universiteit Utrecht is een groot en veelzijdig kenniscentrum dat onderwijs en onderzoek van internationaal niveau wil leveren. Zij stelt zich daarbij de volgende taken:

- het academisch vormen van jonge mensen;
- het opleiden van nieuwe generaties onderzoekers;
- het opleiden van academici die kennis combineren met professionele vaardigheden;
- het doen van grensverleggend onderzoek;
- het bijdragen aan oplossingen voor maatschappelijke vraagstukken.

Menselijke en dierlijke gezondheid zijn niet altijd strikt te scheiden. Bedreigingen van de dierlijke gezondheid kunnen ook die van de mens bedreigen en andersom. Er zijn diverse ziektes bij dieren bekend die naar de mens kunnen overspringen. Binnen de 'One Health' benadering werken medisch en veterinaire specialisten samen om gemeenschappelijke gezondheidsbedreigingen te onderzoeken en therapieën te ontwikkelen. Onderzoekers van het UMC Utrecht werken dan ook intensief samen met onderzoekers van de faculteit Diergeneeskunde om op deze manier efficiënt ziektes te bestrijden.

De universiteit is dan ook sterk vertegenwoordigd in de Life Sciences door de intensieve samenwerking tussen de faculteit Diergeneeskunde – de enige in Nederland –, het UMC Utrecht met daarin de faculteit Geneeskunde, en het Life Sciences gedeelte van de faculteit Bètawetenschappen. De universiteit heeft daarnaast grote, breed samengestelde faculteiten voor de Geesteswetenschappen, Geowetenschappen, de Sociale Wetenschappen en voor Recht, Economie, Bestuur en Organisatie. Op onderwijsgebied is de Universiteit Utrecht een innovatieve universiteit. De kwaliteit van het Utrechtse onderwijs wordt daardoor hoog gewaardeerd. Hoogleraren in Nederland zetten de Universiteit Utrecht al enkele jaren achtereen op de eerste plaats in de Elsevier-enquête en de waardering van studenten voor het onderwijs in de Utrechtse studentenmonitor neemt nog steeds toe.

Voortrekkersrol

De Universiteit Utrecht heeft een voortrekkersrol op het terrein van het proefdierbeleid, dat gericht is op vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven, in Nederland. Dit is bereikt door de instelling van de eerste leerstoel Proefdierkunde in Nederland in 1983 (thans leerstoel Dierenwelzijn en Proefdierkunde). Verder is sinds 2000 de eerste – en wereldwijd unieke – leerstoel Alternatieven

voor Dierproeven ondergebracht bij de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht. Ten slotte is in 2008 bij het Instituut voor Risk Assessment Sciences (IRAS) de leerstoel 'Alternatieven voor Dierproeven in de Toxicologische Risicobehoedeling' ingesteld. Deze leerstoel richt zich op de verdere ontwikkeling en implementatie van onderzoeksmethoden voor het vaststellen van gezondheidsrisico's van blootstelling aan stoffen voor mens en milieu zonder dat daar dierproeven voor gebruikt hoeven te worden. De drie leerstoelhouders werken samen met hun staf aan de ontwikkeling en toepassing van methoden die leiden tot vervanging, vermindering of verfijning van dierproeven, de zogenoemde 3V's.

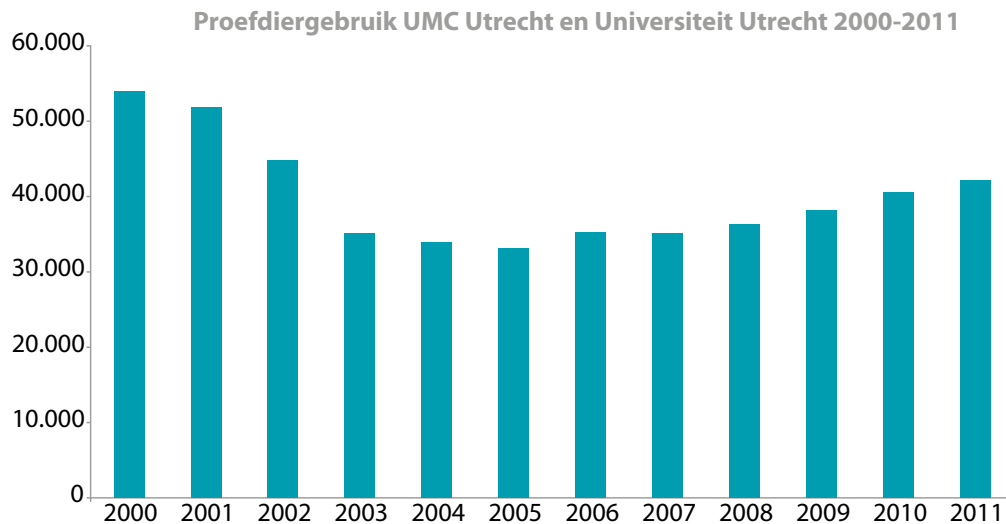
In 1994 is ook het toenmalige Nationaal Centrum Alternatieven voor dierproeven (NCA) ondergebracht bij de faculteit Diergeneeskunde. Het huidige Nationaal KennisCentrum Alternatieven voor dierproeven (NKCA) is een samenwerkingsverband tussen deze faculteit en het RIVM. In januari 2004 is binnen de faculteit Diergeneeskunde het departement Dier in Wetenschap en Maatschappij ingericht. Dit kenniscentrum heeft de missie om het welzijn van dieren door middel van onderzoek, onderwijs en communicatie te optimaliseren. Verder is onlangs vanuit dit departement het 3V-Centrum Utrecht Life Sciences opgericht dat als 3V-kenniscentrum zal fungeren voor het UMC Utrecht, de Universiteit Utrecht en andere partners binnen Utrecht Life Sciences.

Het huidige en toekomstige proefdierbeleid van de Universiteit Utrecht blijft dan ook gericht op het stimuleren van de ontwikkeling, toepassing en acceptatie van methoden die het gebruik van (proef)dieren kunnen vervangen, verminderen en verfijnen (de 3V's). Ondanks alle ontwikkelingen op het gebied van de 3V's is biomedisch onderzoek zonder proefdieren nu geen realistisch scenario. Daarom zijn de activiteiten van de Universiteit Utrecht thans gericht op het minder belastend maken van dierproeven, waardoor het welzijn van de dieren verbetert. Door de betrouwbaarheid van dierproeven te verhogen en alternatieven in te zetten, wordt bijgedragen aan de daling van het aantal benodigde proefdieren. Deze activiteiten en resultaten worden actief gecommuniceerd en uitgedragen, zodat ze breed in het biomedisch onderzoek kunnen worden toegepast.

Proefdiergebruik UMC Utrecht en Universiteit Utrecht

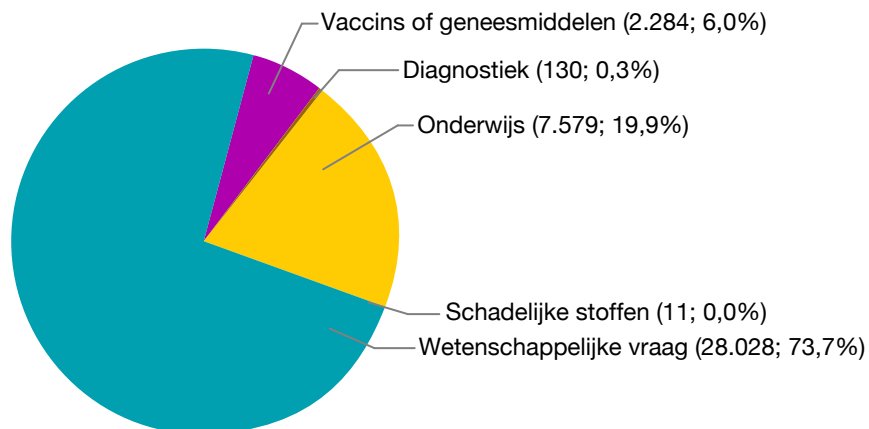
Ondanks het feit dat beide vergunninghouders veel aandacht hebben voor vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven, zijn de vergunninghouders er niet in geslaagd het aantal proefdieren, dat wordt ingezet voor onderzoek en onderwijs, te verminderen. Zie tabel pag. 8.

Er is zelfs sprake van een lichte stijging. Waardoor dit precies wordt veroorzaakt, is niet duidelijk. Proefdieren huisvesten, verzorgen en in experiment nemen kost veel geld. Worden er door een onderzoeksgroep meer subsidies binnengehaald, dan zijn er ook meer middelen beschikbaar voor dierexperimenteel onderzoek. Daarnaast wordt er beter geregistreerd dan vroeger het geval was waardoor het lijkt of er meer proefdieren zijn gebruikt dan voorheen.



De meeste dierproeven betreffen wetenschappelijke vragen. Hieronder een overzicht van de doelen van de dierproeven.

Totaal aantal dierproeven en het doel van de dierproeven binnen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht in 2011



1.3 Focus op het varken

Het proefdierkundig jaarverslag van het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht over het kalenderjaar 2009 bevatte algemene informatie over visie en doelstellingen van beide instellingen ten aanzien van dierproeven. Daarnaast is een uitvoerige toelichting gegeven op interne procedures waarmee naleving van wettelijke voorschriften en het welzijn van de proefdieren worden geborgd. In 2010 werd gekozen voor een thematische aanpak. Daarbij werd de inzet van proefdieren ten behoeve van het praktisch onderwijs binnen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht in het bijzonder belicht. In het proefdierkundig jaarverslag 2011 ligt het accent op de inzet van varkens bij onderwijs en onderzoek. Tevens wordt toegelicht waar het mogelijk is gebleken om dieren te vervangen door alternatieve onderwijs- en onderzoeksmethoden en welke inspanningen zijn verricht om het gebruik van dieren verder terug te dringen.

Huisvesting varkens faculteit Diergeneeskunde



“Het is het meest ontroerende dier dat er bestaat. De snuit. De oogharen. De oren, als de luchtkokers op een schip. De zedige hoefjes. De altijd vrolijke glimlach. De ogen van Evelyn Waugh. De buik, bijna te intiem om over te spreken. Dat geldt trouwens voor de hele anatomie van het dier: een zekere schroom heeft mij altijd weerhouden erover te schrijven, als betrof het een slaapkamergeheim. Die roze huid, die kleine blonde haartjes. En niets dat mij zo in verwarring brengt als het geluid van een varken, warm en diep als de lage noten op een saxofoon, [...] De tevredenheid strekt zich uit van stopcontact tot kurkentrekker. Het lieve varken. Het lieve, lieve varken.”

Rudy Kousbroek, Het meer der herinnering.

2

Hoofdstuk 2

Waarom het varken als thema van dit jaarverslag

2.1 Het varken als nutsdier

Varkens (wetenschappelijke naam: *sus scrofa*) spelen een belangrijke rol in onze samenleving. Ze worden massaal gefokt voor onze voedselvoorziening. Daarnaast worden varkens ook gebruikt als gezelschapsdier, bijvoorbeeld op kinderboerderijen, maar ook bij particulieren. Dat varkens voor dit doel worden gehouden, heeft te maken met het feit dat deze diersoort sociaal, nieuwsgierig en intelligent is. Tegenwoordig doen ook zogenaamde zorgboerderijen steeds meer opgang, waarbij het varken wordt ingezet ten behoeve van therapie van lichamelijk en geestelijk gehandicapten of personen met psychische problemen. Er bestaan ook boerenbedrijven waar mensen tijdens een dagje uit kunnen knuffelen met varkens. Varkens worden echter ook regelmatig ingezet als proefdier en worden dan gebruikt voor fundamenteel of toegepast wetenschappelijk onderzoek. Met dit jaarverslag beogen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht het belang van het varken binnen het dierexperimenteel onderzoek en onderwijs, dat onder hun verantwoordelijkheid plaatsvindt, nader toe te lichten.

2.2 De bruikbaarheid van het varken voor onderzoeksdoeleinden

“Varkens zijn bijna mensen”, wordt beweerd. Varkens zijn op veel punten vergelijkbaar met de mens. Ze zijn net als de mens omnivoor (eten zowel vlees als planten), dus de stofwisseling lijkt op die van de mens. De fysiologie, huidstructuur, nierfuncties en het cardiovasculaire systeem zijn vergelijkbaar en ook het immuunsysteem vertoont grote overeenkomsten met dat van de mens. Het varken is gedomesticeerd en daardoor gemakkelijk hanteerbaar. De meest gebruikte rassen in het wetenschappelijk onderzoek zijn vleesvarkenrassen als de Yorkshire, Landras, Duroc en hun kruisingen. Maar door hun grootte en snelle groei wordt er veel gevraagd van de huisvesting. Vandaar dat er steeds meer gebruik wordt gemaakt van zogenaamde mini-pigs, als het Göttingen mini-varken. Onlangs is een Europees project, Rethink, afgerond dat de rol van de mini-pig in het wetenschappelijk onderzoek is nagegaan.

Voor onderzoeksdoeleinden heeft het gebruik van menselijk materiaal voor cel- en weefselkweekmethoden altijd de voorkeur. Wanneer menselijk weefsel echter niet beschikbaar is, kan als alternatief slachthuis materiaal van varkens worden gebruikt.

Vaak wordt dierexperimenteel onderzoek in eerste instantie uitgevoerd met muizen of ratten. De met deze diersoorten behaalde onderzoeksresultaten worden vervolgens geverifieerd in een grote diersoort zoals het varken. Het varken lijkt immers in de meeste opzichten meer op de mens dan de meeste knaagdieren. Uiteindelijk volgt de laatste onderzoeksfase, ook wel klinische fase genoemd, waarbij proefpersonen worden ingezet.

Zo dom als het achter eind van een varken, luidt het spreekwoord. Echter, het varken is een zeer intelligente diersoort en komt wat deze eigenschap betreft bij de zoogdieren, na mens, aap en dolfijn, op de vierde plaats. Relatief nieuw is dan ook dat varkens voor gedragstudies worden gebruikt. Varkens zijn goed te trainen, kunnen goed leer- en geheugentaken uitvoeren en kunnen zelfs verschillende mensen van elkaar onderscheiden. Door de grote overeenkomst in hersenen, wat betreft grootte, bouw en functie, geven resultaten van deze studies niet alleen inzicht in gezondheid en welzijn van deze diersoort, maar zijn deze bevindingen ook relevant voor het functioneren van de hersenen van de mens.

2.3 Het varken als proefdier ten behoeve van de intensieve varkenshouderij

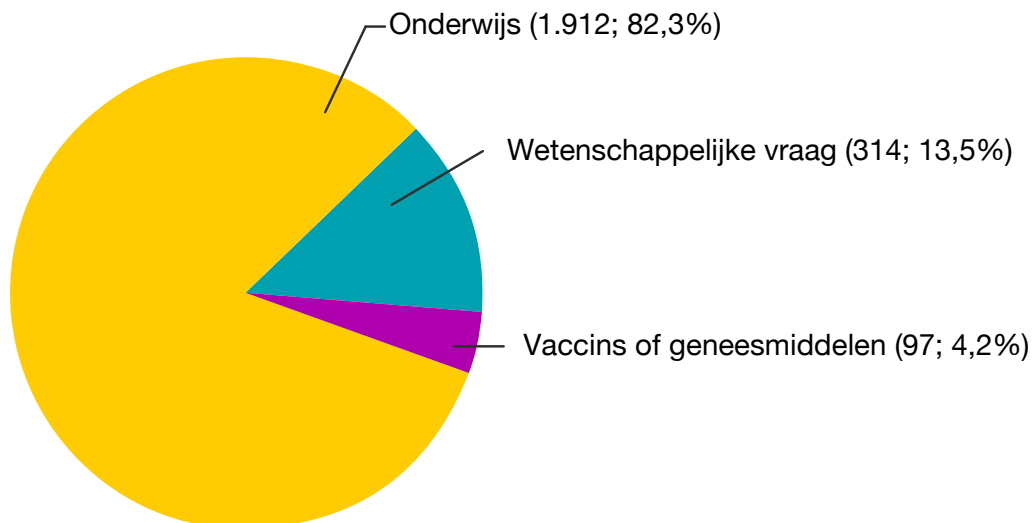
Varkens worden frequent gebruikt als studieobject binnen het toegepast onderzoek om het welzijn van deze diersoort in de vleesindustrie te verbeteren. Met name is er aandacht voor vermindering van stress van varkens in overvolle hokken, waar soortspecifiek gedrag als wroeten en het nemen van modderbaden beperkt of onmogelijk is. De intensieve varkenshouderij gaat gepaard met bijzondere problemen. Boeren streven naar het zo vroeg mogelijk spenen van de biggen, zodat de zeug snel een nieuwe toom biggen kan werpen. Vroeg spenen gaat echter gepaard met spijsverteringsproblemen bij de biggen, hetgeen vaak resulteert in (ernstige) diarree. Bij varkens die met grote aantallen op een kleine oppervlakte worden gehuisvest, kunnen zich ook eenvoudig infecties verspreiden. Om die reden worden de dieren overmatig behandeld met antibiotica, hetgeen weer een risico met zich meebrengt voor het resistent worden van bacteriën en aldus een bedreiging kan vormen voor mens en dier. Ten slotte worden mannelijke biggen op zeer jonge leeftijd gecasteerd ter voorkoming van de zogenaamde berengeur en worden alle biggen van hun staart ontdaan, omdat dit lichaamsdeel vaak het doel is van onderlinge agressie. De beschreven problemen zijn rechtstreeks gerelateerd aan de intensieve varkenshouderij. Zolang deze wijze van het fokken en vetmesten van varkens ten behoeve van consumptiedoeleinden wordt geaccepteerd en wettelijk is toegestaan, is onderzoek ter verbetering van het welzijn van het varken en ter voorkoming van gezondheidsproblemen van zowel het varken als de consument nuttig en gerechtvaardigd.

2.4 Het varken als proefdier ten behoeve van het biomedisch onderzoek

De meest gebruikte diersoorten in het biomedisch onderzoek zijn muizen en ratten, maar het varken wordt vaak ingezet om bevindingen, behaald bij de kleine diersoorten, nader te toetsen. In veel gevallen betreft dit onderzoek naar hart- en vaatziekten. Daarbij zijn zowel oorzaken voor het ontstaan van aandoeningen van het hart en het vaatstelsel, als het behandelen daarvan onderwerp van studie. Natuurlijk kan goede voorlichting over een verantwoorde levenswijze met bewegen en gezonde voeding helpen problemen aan hart en vaten te voorkomen. Er zijn echter ook andere oorzaken, zoals genetische factoren, andere ziekten (bijv. nierziekten) of stress, die een belangrijke rol spelen bij het ontstaan van een hart- of vaatprobleem. Varkens worden ook, maar in mindere mate, ingezet

voor onderzoek naar andere aandoeningen. Vanwege de gelijkenis met de mens, betreft dit onderzoek naar problemen met de spijsvertering, de afweer en het skelet. Bij al deze gezondheidgerelateerde studies met varkens, richt het onderzoek zich op fundamentele vraagstukken (hoe ontstaat de ziekte en welke factoren spelen daarbij een rol?), juiste diagnose (hoe kunnen aard en omvang van de ziekte op de juiste wijze in kaart worden gebracht?) en toepassen van een adequate therapie (welke behandeling leidt tot terugdringen van het ziekteproces of kan er, bij voorkeur, voor zorgen dat de ziekte in zijn geheel en permanent wordt verholpen?).

Totaal aantal dierproeven met varkens en het doel van deze dierproeven binnen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht in 2011



2.5 Het varken als proefdier voor het oefenen van praktische vaardigheden



Oefenen endoscopische operatie

Doordat de grootte, bouw en functie van organen van mens en varken vergelijkbaar zijn, zijn varkens ook zeer geschikt om nieuwe operatietechnieken en procedures te oefenen voordat ze op de mens worden uitgevoerd. In eerste instantie zal altijd geprobeerd worden vaardigheden aan te leren met behulp van kunstmatige hulpmiddelen. Daarbij gaat het in veel gevallen om het ontwikkelen van de juiste oog-hand coördinatie (foto links). Omdat objecten van kunststof vanzelfsprekend anders reageren dan weefsel van mens of dier, kan bij een volgende stap gebruik worden gemaakt van slachthuis materiaal of 'restmateriaal' van proefdieren. Vervolgens worden levende dieren ingezet waarbij geleerd wordt hoe om te gaan met onverwachte problemen, zoals een bloeding of een hartstilstand. Na dergelijke vaardigheidstraining is een (dieren)arts tenslotte goed voorbereid op toepassing van de nieuwe techniek in de beroepspraktijk.

2.6 Huisvesting en verzorging van varkens die worden ingezet als proefdier



Varkens gehuisvest in het Centraal Dierenlaboratorium

De regelgeving rond proefdieren en dierproeven is uitermate strikt. Dit is niet alleen omdat het onderwerp zeer gevoelig ligt binnen de maatschappij. De Wet op de dierproeven en alle daaraan verbonden regelgeving wil ook bewerkstelligen dat proefdieren in een optimale conditie verkeren. Betrouwbare resultaten kunnen immers niet behaald worden met dieren die ziek zijn, onnodig pijn lijden of aan stress onderhevig zijn. Een gezond proefdier met optimaal welzijn is een voorwaarde voor het verrichten van kwalitatief hoogstaand onderzoek.

De wettelijke eisen aan de huisvesting en verzorging van proefdieren zijn, in vergelijking met die van andere gehouden diersoorten (boerderij, dierentuin, circus, asiel, huiskamer), verreweg het strengst. Varkens leven van nature in sociaal verband en moeten om die reden in een dierenlaboratorium altijd in groepen worden gehuisvest. Voor varkens gelden per gewichtscategorie minimale afmetingen van het hok, in combinatie met minimale oppervlakte-eisen per dier. Zo moeten varkens van 50-70 kg bijvoorbeeld in een hok van 3 m² worden gehuisvest en wordt ieder dier minimaal 0,8 m² toebedeeld. Er mogen dus

maximaal 3 varkens van dit gewicht in een hok met deze afmetingen gehuisvest worden. Het hok dient voorzien te zijn van een dichte bodem, waarop bodembedekkingsmateriaal aanwezig dient te zijn. Bodembedekking bevordert wroetgedrag en garandeert een comfortabele ligplaats. Omdat varkens hun uitwerpselen meestal op een aparte plaats deponeren, mag een deel van de bodem uit een (beton)rooster bestaan. Voorts zijn er voor varkens regels voor de grootte van de voedertrog, aantal drinkplaatsen en hoeveelheid water. Ook het klimaat in de dierruimte dient gereguleerd te zijn en dagelijks gecontroleerd te worden, waarbij er met name strikte voorwaarden zijn ten aanzien van de temperatuur. Ten slotte dienen proefdieren voorzien te worden van attributen die het natuurlijk gedrag bevorderen. Naast de mogelijkheid tot wroeten, krijgen proefvarkens meestal speeltjes, zoals een bal, sabbelstokken of een ketting aangeboden. Het is zaak deze attributen regelmatig te wisselen omdat de dieren er anders op uitgekeken raken. Bijgevoegde foto's geven een indruk hoe proefvarkens worden gehuisvest.



Mini-pigs gehuisvest bij de faculteit Diergeneeskunde

2.7 Ethische aspecten van het gebruik van varkens als proefdier

Hoewel varkens eerder door de gemeenschap zullen worden geaccepteerd als proefdier dan honden en katten, verschillen ze niet van deze dieren als het gaat om het ervaren van ongerief. Ethisch gezien zullen daarom voor varkens als proefdier dezelfde ethische afwegingen moeten worden gemaakt als voor elk ander gewerveld dier. De tabel op pagina 18 geeft inzicht in het totaal aantal dierproeven dat in 2011 werd uitgevoerd binnen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht, het aandeel daarin van dierproeven met varkens en de mate van ongerief die de dieren hebben ervaren. Daaruit blijkt dat het aantal dierproeven met varkens relatief gering is en dat ook het ongerief dat de dieren daarbij ondervinden, beperkt is gebleven. De lage ongeriefcategorieën betreffen voornamelijk onderwijs aan studenten Diergeneeskunde en training van medisch specialisten. Onder de

Varkens ingezet als proefdier in 2011, uitgesplitst per faculteit en naar mate van ongerief

Mate van ongerief	Universiteit Utrecht				UMC Utrecht			
	Totaal aantal dierproeven	relatief	Dierproeven met varkens	relatief	Totaal aantal dierproeven	relatief	Dierproeven met varkens	relatief
Gering	7.242	27,6%	125	5,9%	3.571	22,3%	66	33,3%
Gering-matig	12.496	47,6%	1888	88,8%	2.525	15,8%	12	6,1%
Matig	4.409	16,8%	86	4,0%	3.846	24,0%	0	0,0%
Matig-ernstig	1.554	5,9%	26	1,2%	4.398	27,5%	52	26,3%
Ernstig	530	2,0%	0	0,0%	1.657	10,4%	68	34,3%
Zeer ernstig	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
totaal	26.231	100,0%	2125	100,0%	15.997	100,0%	198	100,0%

categorie 'gering ongerief' vallen wettelijk gezien ook dierproeven waarbij het varken onder narcose wordt gebracht en waarna het dier aan het eind van de dierproef niet meer wakker wordt. De dieren met hoger ongerief werden vrijwel unaniem ingezet binnen het UMC Utrecht ten behoeve van onderzoek naar hart- en vaatziekten. Voor nadere details wordt verwezen naar hoofdstuk 3.

Geraadpleegde literatuur bij hoofdstuk 2

- Varkenskaracters: individuele eigenschappen & omgang met stressvolle omstandigheden. J.E. Bolhuis. 2006 Biotechniek 45: 45-49
- Het varken als model voor het humaan gastro-intestinaal onderzoek. E. van Haver, M. Oste en C. van Ginneken. 2007 Biotechniek 46: 239-245
- Of pigs and men and research: A review of applications and analogies of the pig, sus scrofa, in the human medical research. 1972 Space Life Sciences 3: 226-234
- Ethical implications of using the minipig in regulatory toxicology studies. 2010 Journal of pharmacological and toxicological methods 62: 160-166
- The minipig as a platform for new technologies in toxicology. R. Foster et al. 2010 Journal of pharmacological and toxicological methods 62: 227-235

3

Hoofdstuk 3

Dierproeven met varkens

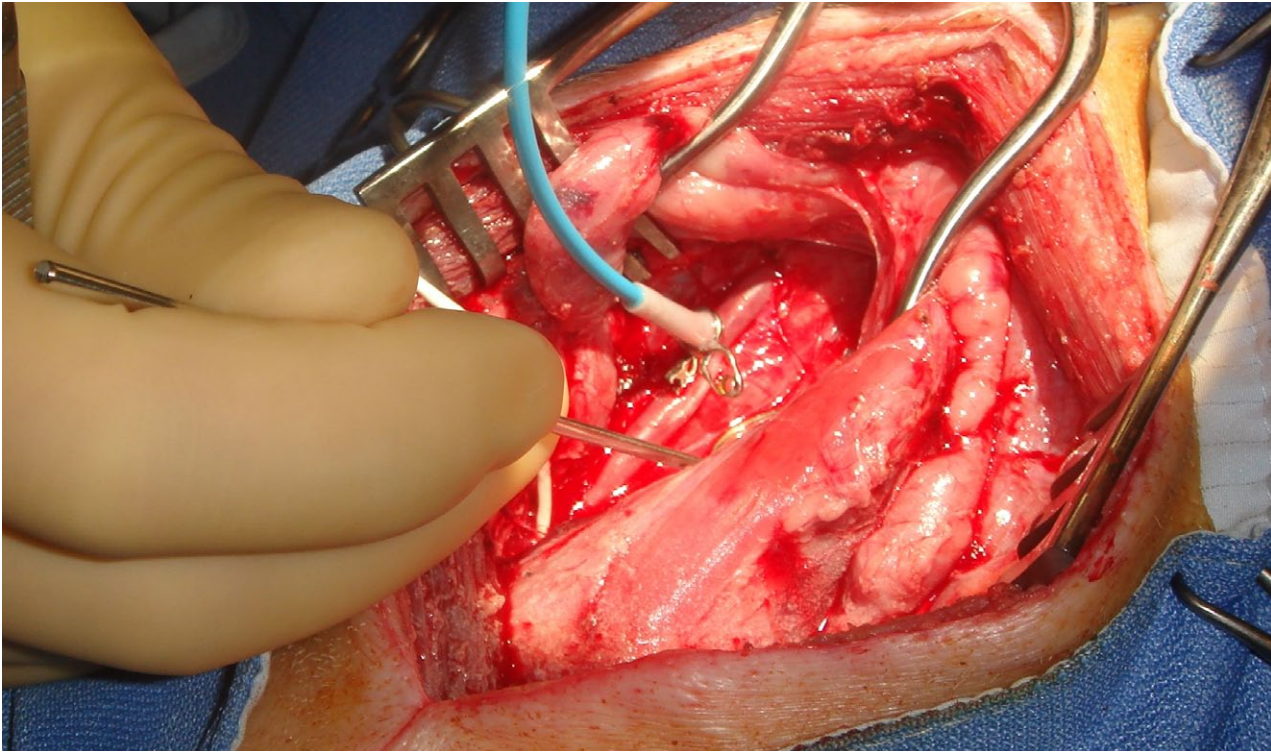
De onderstaande korte beschrijvingen van studies met varkens zijn opgesteld door de onderzoekers die verantwoordelijk waren voor de opzet en uitvoering van de dierexperimenten.

3.1 Dierproeven met varkens ten behoeve van onderzoek naar hart- en vaatziekten

3.1.a Lange termijn onderzoek naar patency, remodeling en re-endothelisatie van de SELANA-clip (Sutureless Eximer Lasers Assisted Non-occlusive Anastomosis) bypass

Achtergrond: Neurologische ziekten kenmerken zich door de uitval van lichaamsfuncties in lichte, maar helaas ook zeer ernstige mate. Een van de oorzaken van deze uitval is het gebrek aan zuurstof van een deel van de hersenen, meestal door het ontstaan van een verstopping in een van de bloedvaten in de hersenen. Een neurochirurgische behandeling is het aanleggen van extra aanvoerende vaten naar deze delen van de hersenen. Deze techniek heet re-vascularisatie en gebeurt door middel van het maken van een bypass (vaatomleiding).

Een van de manieren om een bypass te maken is de ELANA (Excimer Laser Assisted Non-occlusive Anastomosis) techniek, ontwikkeld in het Academisch Ziekenhuis Utrecht in de jaren tachtig en sinds 1993 in de kliniek toepasbaar. De ELANA techniek is ontwikkeld om een bypass te maken in het brein bij voorheen onbehandelbare patiënten. De ELANA techniek maakt gebruik van een laser bij het



Met een laser wordt tijdens de omleidingsoperatie een open verbinding tussen de beide bloedvaten gemaakt

maken van een anastomose (verbinding tussen twee bloedvaten). Op deze manier hoeft het ontvangend vat niet afgesloten te worden en is continue bloedtoevoer naar de hersenen gegarandeerd. De huidige ELANA techniek maakt gebruik van totaal 16 hechtingen (8 hechtingen op het donorvat en 8 hechtingen op het ontvangend vat in de hersenen). De laatstgenoemde hechtingen zijn tijdrovend en brengen een zeker risico met zich mee, aangezien deze hechtingen ter plaatse in de hersenen worden aangebracht.

Het huidige onderzoek met varkens is erop gericht de anastomoses te maken, zonder dat er hechtingen nodig zijn: Sutureless ELANA (SELANA). Deze techniek maakt gebruik van een clip.

De SELANA-clip is ontwikkeld om de tijd die het plaatsen van de hechtingen, en de risico's die hierbij horen, te verminderen. De clip bestaat uit een ring aan de bovenkant en twee pootjes aan de onderkant. Aan de ring wordt het donorvat bevestigd en de onderkant wordt in het acceptorvat geïntroduceerd. Na introductie wordt de clip gesloten en zijn de vaten verbonden. Na de verbintenis wordt er een gat in het acceptorvat gebrand met de laser, waarna de anastomose open is.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te onderzoeken hoe betrouwbaar met de SELANA techniek gerealiseerde vaatomleidingen zijn.

Opzet van het onderzoek: Bij diverse varkens wordt een SELANA bypass aangebracht waarna de dieren gedurende langere tijd nauwkeurig worden gevolgd op de mate van doorbloeding van de vaatomleiding en het eventueel ontstaan van complicaties. Op vaste tijdstippen worden de dieren gedood waarna de vaten worden uitgenomen en de veranderingen van de vaatwand in detail worden bestudeerd.

Met het ontstaan van de SELANA techniek zijn er ook operatie indicaties in andere specialismen ontstaan. Simultaan met het onderzoek op neurochirurgisch vlak, wordt er nu ook op cardiochirurgisch vlak onderzoek gedaan.

Deze nieuwe techniek verkort de operatietijd en vermindert de operatierisico's. Hopelijk kunnen hierdoor in de toekomst meer mensen een bypassoperatie ondergaan.

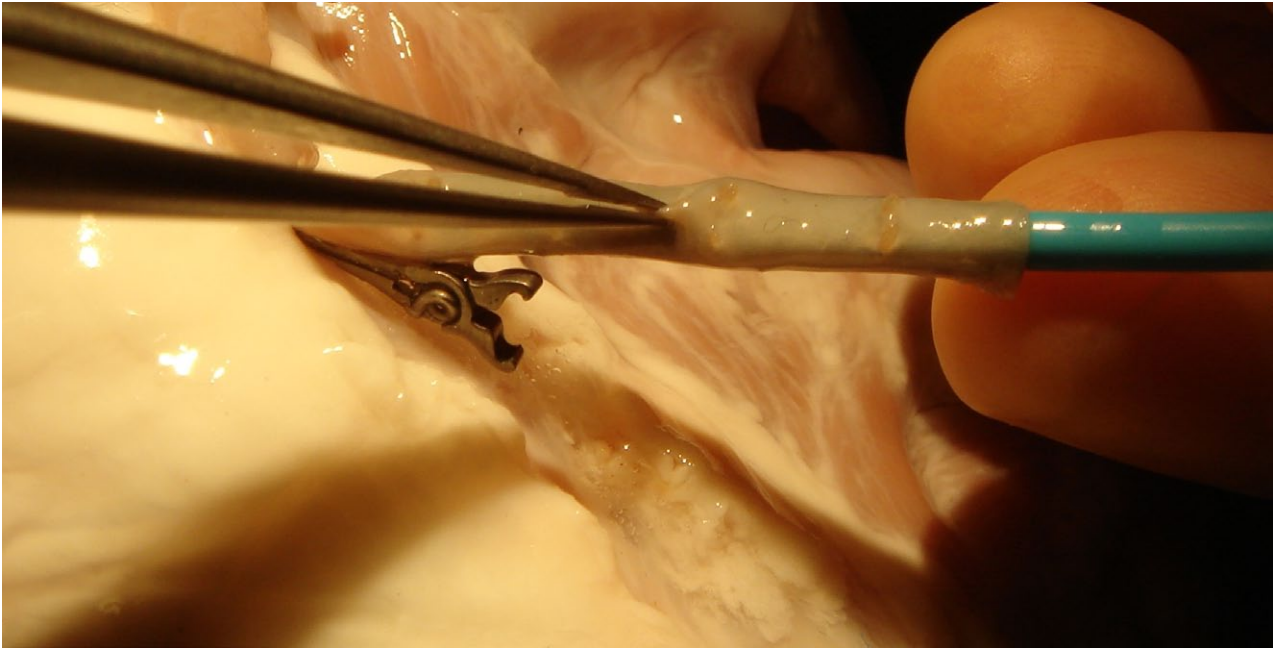
3.1.b Coronaire bypass chirurgie vergemakkelijkt door de nieuwe Sutureless Excimer Laser Assisted Non-occlusive Anastomosis (SELANA) techniek in het varkensmodel

Achtergrond: SELANA is een techniek waarbij op een slagader een vaatverbinding gemaakt wordt zonder het vat af te sluiten en zonder hechtingen. Op dit moment is een kransslagader-omleidingsoperatie middels een kijkoperatie erg moeilijk uitvoerbaar, terwijl daar wel veel behoefte aan is. Dit komt voornamelijk door de in een beperkte werkruimte moeilijk uitvoerbare handgemaakte vaatverbinding. De SELANA techniek zou zo'n kijk-omleidingsoperatie op het hart mogelijk kunnen maken. Dit zou in de toekomst kunnen leiden tot een veiligere ingreep met minder complicaties en een kortere herstelperiode.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om te testen of de SELANA techniek daadwerkelijk toepasbaar is op het hart en of de kwaliteit ervan voldoende is.

Opzet van het onderzoek: In 14 varkens wordt per varken 1 vaatverbinding op het hart gemaakt. Op verschillende tijdstippen na de operatie wordt gekeken naar de initiële kwaliteit en genezingstendenzen van deze nieuwe verbindingen.

Maatschappelijk belang: In de hartchirurgie is een invasieve ingreep (borstbeen wordt helemaal doorgezaagd) nodig om een omleidingsoperatie uit te voeren. De nieuwe SELANA techniek zou een omleidingsoperatie via kleine snedes (een kijkoperatie) technisch mogelijk kunnen maken. De vele patiënten die voor deze behandeling in aanmerking komen, zouden in de toekomst hierdoor een veiligere ingreep ondergaan met minder complicaties, een veel kortere herstelperiode doormaken terwijl de hiermee gepaard gaande kosten lager kunnen blijven.



Beide bloedvaten worden met elkaar verbonden met behulp van de SELANA-clip

Wetenschappelijk belang: De SELANA techniek staat voorop in de internationaal wetenschappelijke ontwikkelingen betreffende vaatverbindingen in het brein, met nu aanstaande de stap naar de kransslagader-omleidingsoperatie. In de hartchirurgie is een eenvoudige maar tevens kwalitatief goede vaatverbindingstechniek van groot belang voor het daadwerkelijk kunnen uitvoeren van een kransslagader omleidingsoperatie middels een kijkoperatie. Het slagen van de SELANA techniek in de hartchirurgie zou wetenschappelijk revolutionair zijn.

Afweging ongerief versus belang: Het ongerief van de dieren weegt op tegen het maatschappelijke belang. Wij zijn niet eerder in staat de techniek veilig in de mens toe te passen, nadat deze echt goed is getest op diermodellen. Uiteindelijk willen wij met deze techniek de pijn na een bypass operatie en complicaties na een kransslagader omleidingsoperatie verminderen en zo de hersteltijd na een operatie bespoedigen.

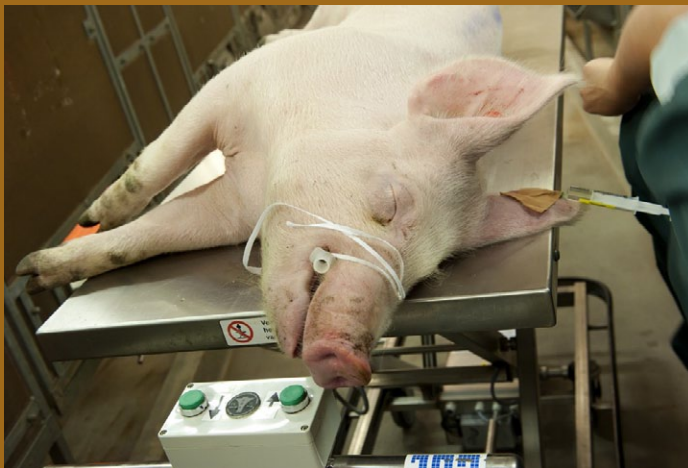
3.1.c Therapeutische toepassingen van mesenchymale stamcel exosomen bij een hartinfarct; Hartbeschermende werking van stamcelblaasjes

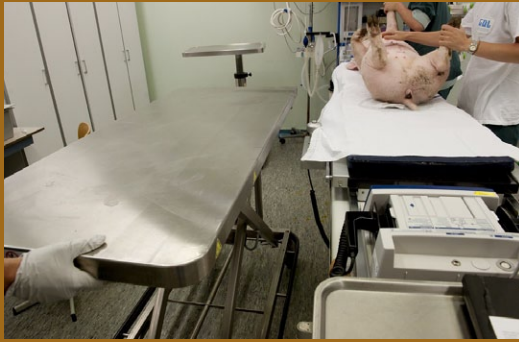
Achtergrond: Verschillende experimentele en klinische studies hebben aangetoond dat stamceltransplantaties een gunstig effect hebben na een hartinfarct. Inmiddels is duidelijk geworden dat dit niet wordt veroorzaakt doordat deze stamcellen de afgestorven hartspiercellen en bloedvaten vervangen, maar dat het bepaalde blaasjes zijn die de stamcellen uitscheiden, die de genezing van een hartinfarct positief beïnvloeden. Deze blaasjes worden exosomen genoemd.

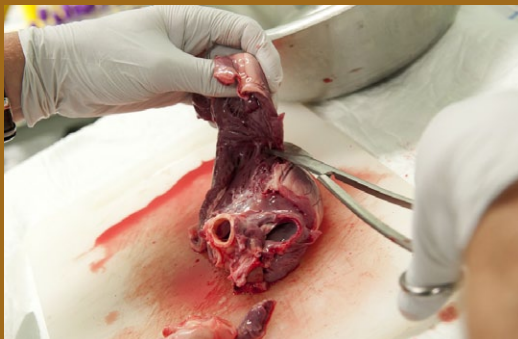
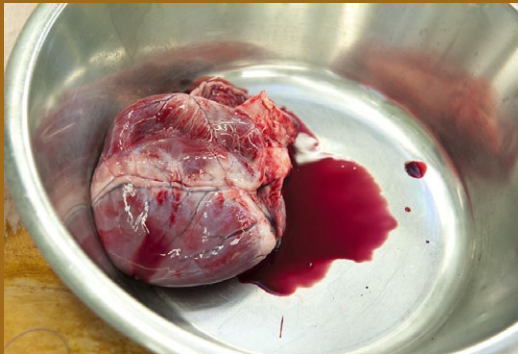
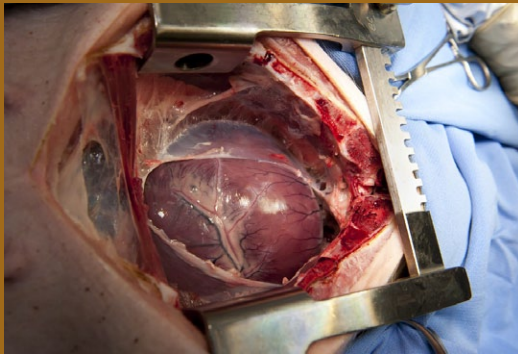
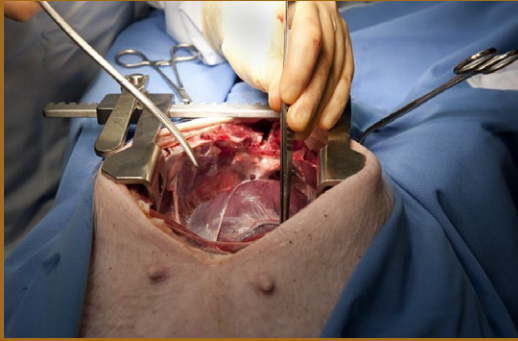
Doel/hypothese: Onderzocht wordt of het toedienen van stamcellexosomen een gunstige werking heeft op de genezing van een hartinfarct, en daardoor resulteert in een kleiner hartinfarct en een behouden hartfunctie. Ook wordt onderzocht wat de beste dosering is en de beste toedieningsweg. Ten slotte wordt bekeken hoe exosomen zich in het lichaam gedragen en wat de mechanismes zijn van de beschermende werking.

Opzet van het onderzoek: Dit onderzoek is de laatste stap voordat exosomen in patiënten getest worden. Voor dit onderzoek maken de onderzoekers gebruik van varkens die anatomisch en fysiologisch veel op mensen lijken. Bij deze varkens wordt een hartinfarct geïnduceerd door een van de kransslagaderen tijdelijk af te sluiten met een ballonkatheter. Vervolgens worden verschillende doseringen exosomen toegediend, via verschillende wegen (via het infuus en via een katheter direct in het kransslagvat). Daarna worden infarctgrootte en hartfunctie gemeten om te bepalen wat de meest optimale behandeling is geweest.

Op de volgende pagina's een beeldverslag van een deel van het experiment.







3.1.d Een varkensmodel voor hartfalen

Achtergrond: Hartfalen, vaak veroorzaakt door een hartaanval, is een van de belangrijkste doodsoorzaken in de westerse wereld. Medicamenteuze behandeling kan hartfalen niet genezen, maar alleen onder controle houden. De enige optie voor genezing is een harttransplantatie, maar vanwege een schaarste aan donorharten komen maar weinig patiënten hiervoor in aanmerking. Met behulp van stamcellen kan na een hartinfarct misschien een deel van de functie van het hart hersteld worden. Voordat stamcellen gebruikt kunnen worden in de mens moeten ze eerst getest worden in het dier. Het varkenshart is het meest overeenkomstig met dat van een mens. Het varken is dus het beste model om de stamcellen in te testen. Er is op dit moment geen goed model wat kan zorgen voor hartfalen, veroorzaakt door een hartaanval, bij varkens. Voordat de stamcellen getest kunnen worden moet er een optimaal model zijn dat voor hartfalen zorgt en dat lijkt op hartfalen bij de mens.

Doel/hypothese: Het vinden van een optimaal model voor hartfalen, zodat er een nieuwe behandeling voor hartfalen bij mensen kan worden onderzocht. Tevens moet daarna het optimale tijdstip voor de behandeling met de stamcellen worden gevonden.

Opzet van het onderzoek: Tijdens dit onderzoek wordt met behulp van echocardiografie bepaald wanneer er na een hartaanval hartfalen ontstaat en wat het juiste tijdstip is voor de behandeling met stamcellen. Als uit het vervolgonderzoek blijkt dat stamceltherapie bij hartfalen de functie van het hart verbetert, zal dit leiden tot een onderzoek bij patiënten, die nadat ze hartfalen hebben ontwikkeld, worden behandeld met de nieuwe stamceltherapie. Uiteindelijk is het doel de sterfte aan hartfalen te verminderen.

Verantwoording dier(varken)gebruik: Het ontstaan van hartfalen en het behandelen hiervan is een proces wat niet na te bootsen is aan de hand van een computermodel of met behulp van een celkweek. Inzet van dieren is hiervoor noodzakelijk. De reden waarom er in dit onderzoek varkens gebruikt worden is, omdat het hart qua anatomie en functie sterk overeenkomt met het hart van de mens.

Maatschappelijk belang: Hartfalen vormt een belangrijk gezondheidsprobleem en brengt veel kosten met zich mee. Als hartfalen beter te behandelen of zelfs te genezen is, zal dit aanzienlijk schelen op kosten van volksgezondheid.

Wetenschappelijk belang: Het is van belang om goed te begrijpen hoe het proces van het ontstaan van hartfalen precies in zijn werk gaat en wanneer hartfalen optreedt na een infarct. Door deze kennis kunnen nieuwe (stamcel) behandelingen getest worden op het juiste model op het juiste tijdstip.

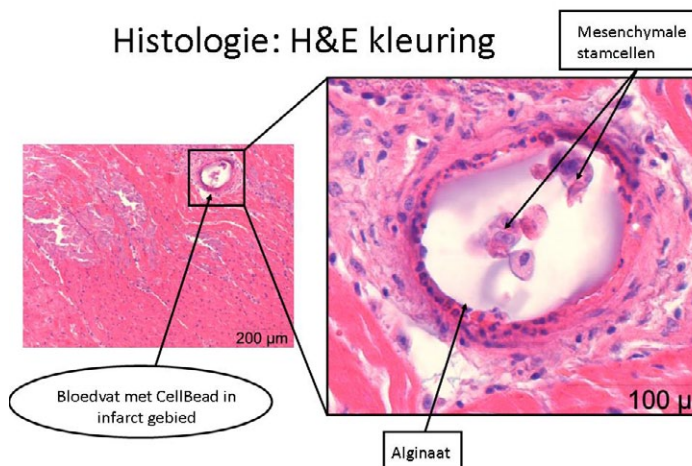
Afweging ongerief versus belang: Er bevalt veel winst te behalen voor de volksgezondheid wanneer er minder patiënten zijn met hartfalen. Hierdoor weegt het ongerief op tegen het belang.

3.1.e Cellbeads voor behandeling van een hartinfarct

Achtergrond: Een hartinfarct leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Dit probeert men te voorkomen door mensen met een hartinfarct zo snel mogelijk aan een behandeling te helpen die de doorbloeding van het hart herstelt. Na een hartinfarct ontstaat er littekenweefsel in het hart waardoor de functie van het hart vermindert. Met behulp van stamcellen wordt geprobeerd het infarct zo klein mogelijk te houden en wordt vaatgroei gestimuleerd waardoor meer zuurstofrijk bloed de hartspeer kan bereiken. Cellbeads zijn kraaltjes van alginaat (een soort zeewier), waarin mesenchymale stamcellen zitten opgesloten (zie afbeelding). Deze stamcellen geven factoren af die celdood tegengaan en vaatgroei stimuleren. Deze cellen zijn zo geprogrammeerd dat ze GLP-1 produceren, een eiwit wat hartschade na een hartaanval kan verminderen.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het behandelen van een hartinfarct en het voorkomen dat de hartfunctie vermindert. Hiervoor worden kraaltjes met bepaalde cellen toegediend (Cellbeads), die in het lichaam zelf een medicijn kunnen aanmaken dat de negatieve gevolgen van een hartinfarct kan verminderen.

Opzet van het onderzoek: De varkens ondergaan een hartinfarct door afsluiting van een van de grote kransslagaders. Hierna krijgt een deel van de varkens Cellbeads in de kransslagader toegediend en een deel krijgt infuusvloeistof ingespoten (als controle) in de kransslagader. Met behulp van echo en druk-volume metingen in het hart, wordt de functie van het hart bepaald.



Microscopische opname van een bloedvat met Cellbead in het hart

Na 8 weken wordt het hart uitgenomen en wordt op microscopisch niveau gekeken naar onder andere de vaatgroei.

Verantwoording dier(varken)gebruik: Varkens zijn het beste vergelijkbaar met mensen met betrekking tot de gevolgen van een hartinfarct. In deze studie wordt gekeken naar de beste dosering van de stamcellen, zodat de positieve effecten het meest duidelijk te zien zijn. Dit is een belangrijke stap op de weg naar een klinisch toepasbare behandeling.

Maatschappelijk belang: Hartfalen vormt een belangrijk gezondheidsprobleem en brengt veel kosten met zich mee. Als hartfalen beter te behandelen, of zelfs te genezen is, zal dit aanzienlijk schelen op kosten van volksgezondheid.

Wetenschappelijk belang: Indien deze behandeling werkt, is het een stap voorwaarts in de goede richting voor de toepasbaarheid van stamcellen in de kliniek. Stamcellen zijn nog nooit eerder in de vorm van Cellbeads gegeven. Cellbeads blijven in het hartweefsel aanwezig waar ze langdurig effect kunnen geven. Wanneer blijkt dat de Cellbeads na 8 weken nog intact zijn en productie geven van stamcel factoren, kunnen ook andere medicijnen lokaal toegediend worden door middel van bead technologie.

Afweging ongerief versus belang: Er bevalt veel winst te behalen voor de volksgezondheid wanneer er minder patiënten zijn met hartfalen. Hierdoor weegt het ongerief op tegen het belang.

3.1.f Het effect van Necrostatine-1 op de remming van celdood door reperfusieschade na een hartaanval

Achtergrond: Hart- en vaatziekten vormen één van de belangrijkste doodsoorzaken in Nederland. Wanneer één van de kransslagaderen om het hart verstopt raakt, is er sprake van een hartaanval. Een hartaanval leidt tot verlies van hartspiercellen. Het is daarom van groot belang dat het bloedvat zo snel mogelijk weer doorgankelijk wordt gemaakt. Als de doorbloeding weer is hersteld, treedt er juist door vrijkomen van schadelijke zuurstofradicalen extra schade op. Hartspiercellen die de hartaanval overleefd hadden, kunnen dan alsnog afsterven. Dit fenomeen heet reperfusieschade. Met een nieuw medicijn, Necrostatine-1, wordt onderzocht of deze reperfusieschade kan worden geremd.

Doel/hypothese: Het onderzoeksdoel is het vaststellen of het nieuwe medicijn Necrostatine-1 de reperfusieschade kan remmen, waardoor de infarctgrootte verkleind kan worden en daardoor de prognose na een hartaanval aanzienlijk kan worden verbeterd.

Opzet van het onderzoek: In dit project wordt via één van de aders vlak voor reperfusie na een hartaanval het medicijn in een groot proefdier, namelijk het varken, toegediend. Onderzocht wordt of het ingebrachte medicijn in het hartweefsel celdood op basis van reperfusieschade kan remmen, zodat

het infarct kleiner wordt en de prognose na een hartaanval wordt verbeterd. Als deze experimentele studie een gunstig effect laat zien, zou dit een nieuwe behandeling kunnen zijn voor hartpatiënten die een acute hartaanval doormaken.

Verantwoording dier(varken)gebruik: Het varken heeft heel veel gelijkenis wat betreft anatomie en hartfunctie met de mens. Dit onderzoek is een noodzakelijke stap om te testen of dit medicijn in mensen gebruikt kan worden.

Maatschappelijk belang: Het remmen van de ernstige gevolgen van een hartaanval kan de prognose van 30.000 Nederlanders die elk jaar een eerste hartaanval doormaken verbeteren.

Wetenschappelijk belang: Het onderzoek van dit medicijn valt binnen breder onderzoek naar het fenomeen reperfusieschade. Met behulp van deze onderzoeksresultaten weten we meer over het werkingsmechanisme van reperfusieschade en kunnen wij testen of dit medicijn het ontstaan van de schade ook daadwerkelijk effectief kan remmen.

Afweging ongerief versus belang: Er is op dit moment nog geen goed alternatief wat dit onderzoek op varkens zou kunnen vervangen. Daarom is van tevoren het minimale aantal dieren berekend wat nodig is om de onderzoeksvragen te kunnen beantwoorden. Tevens wordt bij dit onderzoek het ongerief van het proefdier zoveel mogelijk verminderd door bijvoorbeeld pijnstillers.

3.1.g ACDC lineair dosis-respons studie

Achtergrond: Atrium fibrilleren (AF) is een hartritmestoornis die moeilijk is te behandelen met medicijnen. Ondanks diverse soorten en hogere doseringen medicatie heeft AF de neiging terug te komen. Voor sommige mensen gaat dat gepaard met verschijnselen die het leven ernstig beperken.

Catheterablatie is een relatief nieuwe succesvolle behandelingsvorm voor patiënten met medicamenteus onbehandelbaar AF. Bij deze methode wordt met behulp van een radiofrequente (RF) stroom in de linker boezem rond de inmondingen van de longaders discrete beschadigingen aangebracht door verhitting van het weefsel. Hierdoor raken de inmondingen van de longaders elektrisch geïsoleerd van de linker boezem.

Deze methode heeft helaas slechts een succespercentage van maximaal 80% en om dit succespercentage te bereiken hebben veel patiënten diverse procedures nodig. Door slecht wandcontact tussen de ablatiecatheter en de binnenzijde van het hartspierweefsel resteren er vaak elektrische verbindingen in de isolatielijn rond de longader-inmondingen. Het is tijdrovend om deze elektrische lekkages op te sporen en te dichten. Bovendien ontstaan er vaak in de loop van weken opnieuw elektrische lekkages. Ook gaat de huidige RF-techniek gepaard met een reële kans op complicaties. De ergste complicatie is stolselvorming aan de catheters, met name tijdens ablatie, die, wanneer ze los-

laten en meegevoerd worden door de bloedstroom een herseninfarct kunnen veroorzaken. Ook is er een zekere kans op longader-vernauwing, waardoor kortademigheid kan ontstaan en een perforatie van het hart, wat een levensbedreigende complicatie is. Bovenal zijn deze procedures erg tijdrovend. Tot 15 jaar geleden was Direct Current (DC)-ablatie de enige techniek voor ablatie-procedures van het hart. Hierbij wordt met een externe defibrillator een kortdurende hoge stroom (gelijkstroom) via een catheter door de hartspier gestuurd (shock). Door de komst van de meer elegante RF-techniek, die beter in staat was zeer kleine discrete beschadigingen aan te brengen, is deze op zich zeer effectieve DC methode in onbruik geraakt.

DC-ablatie is dus een oudere methode, maar kan voor het behandelen van atrium fibrilleren door middel van longader-ablatie juist een zeer geschikte methode zijn wanneer we de catheter aanpassen aan het doel waarvoor deze gebruikt dient te worden. Bij DC-ablatie worden relatief grote beschadigingen gemaakt, gerelateerd aan de ingestelde energie (joule). Ook worden beschadigingen gevormd wanneer er geen compleet wandcontact is. Wanneer we een circulaire catheter - dus een catheter gevormd in een lasso - in de longader-inmonding leggen zou middels een gelijktijdige DC-shock over 10 separate elektroden (zie foto p. 33 boven) van deze lasso-catheter danwel de lasso in z'n geheel als elektrode (zie foto p. 33 boven) de hele longader-inmonding geïsoleerd kunnen worden.

De kans op thrombusvorming is bij DC-ablatie veel kleiner dan bij RF-ablatie, omdat er geen warmte gebruikt wordt. Onbekend was het risico op vernauwing van de longaders en perforatie van het hart, maar op grond van de werking van DC-ablatie, en zoals gebleken is bij eerdere varkensproeven uit onze studies, treedt er geen longader-vernauwing of perforatie op, ook niet wanneer we 10 DC-shocks achter elkaar geven. Met andere woorden, vooralsnog is deze vernieuwde vorm van DC-ablatie via een circulaire catheter veilig gebleken. Ook zijn er diverse data uit onze studies die de effectiviteit ervan bewijzen, te weten volledige isolatie van de longaders middels enkele DC-shocks, zowel gemeten direct na de DC-shocks, 3 weken erna en op een termijn van 3 maanden. Omdat meerdere DC-shocks met een forse hoeveelheid energie (200 joules) werden afgegeven op één locatie en de lasso-catheter op sommige plaatsen van de longader-inmonding beter contact maakte dan op andere, konden we niet beoordelen wat de grootte van de beschadiging van één afzonderlijke DC-shock met goed contact geweest zou zijn. Bovendien wilden we weten wanneer de DC-shock het hartspierweefsel in de volle dikte zou beschadigen. Dit is van groot klinisch belang, gelet op het voornemen deze ablatie-methode binnenkort bij patiënten te introduceren. Het ongerief voor de te gebruiken varkens werd vooraf als matig ingeschat. Met de onderzochte varkens hebben zich tijdens en na de eerste procedure geen bijzonderheden voorgedaan.

Doel/hypothese: Het bepalen van de dosis-respons relatie van verschillende sterktes van DC-ablatie via een lasso-catheter met 8 elektroden. Met name wilden we weten hoe diep de beschadiging zou zijn per afgegeven energie, en wanneer de beschadiging de gehele dikte van de hartwand betrof.

Opzet van het onderzoek: Bij vijf varkens werden gedurende de eerste procedure 4-6 DC-shocks onder anesthesie gegeven op de buitenzijde van het hart (na operatief openen van de borstkas). Steeds werd één DC-shock gegeven per locatie. Het hart werd aan de buitenzijde van de linker kamer - die 1 cm dik is, dus aanmerkelijk dikker dan de overgang van de longader naar de linker boezem - verdeeld in 4-6 locaties. Na het termineren van de varkens (3 weken na de ingreep) volgde uitgebreid weefselonderzoek naar de diepte van de beschadiging per afgegeven energie.

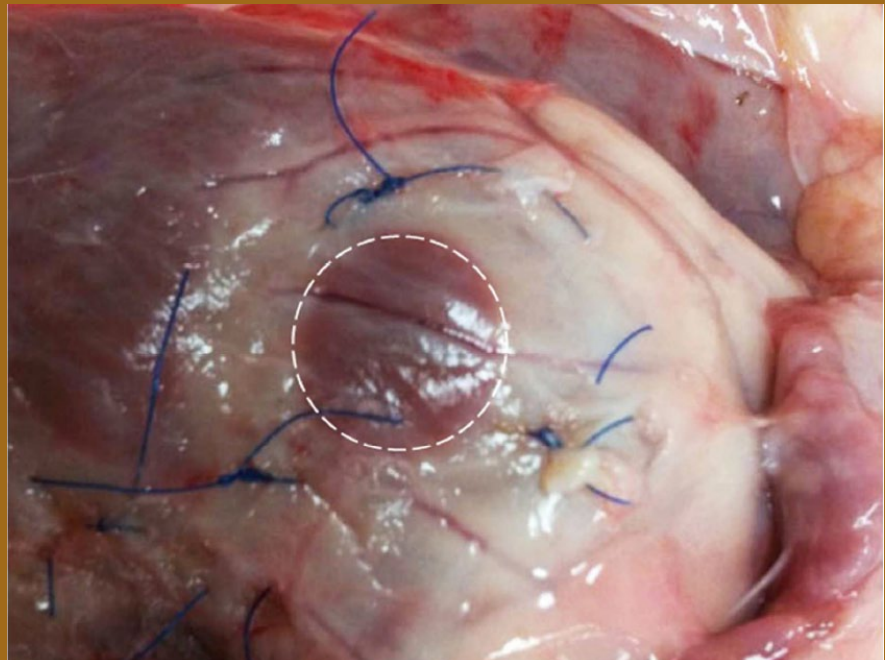
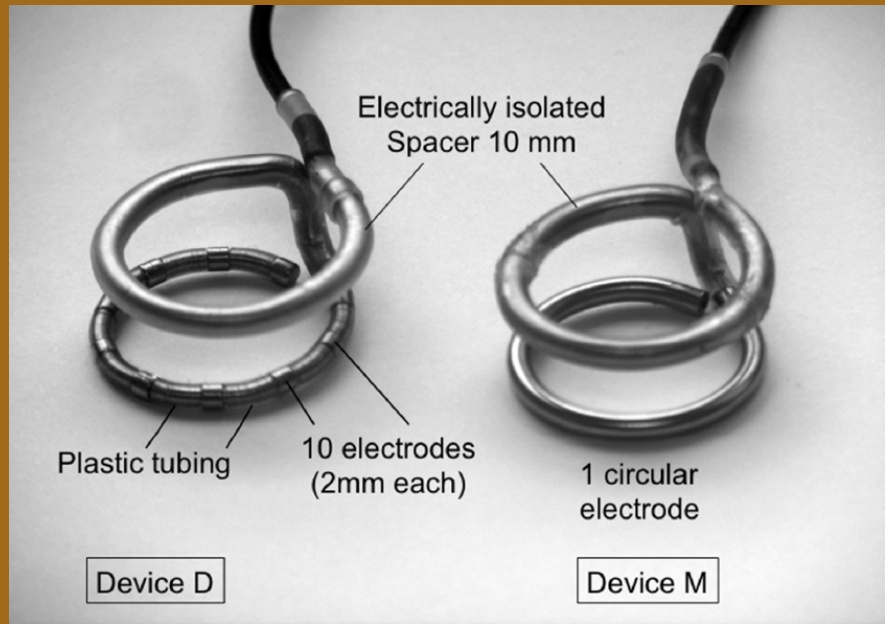
Verantwoording dier(varken)gebruik: De vraagstelling van onze studies betreft de invloed van een DC-shock op hartspierweefsel en de directe omgeving, en op de elektrische geleiding door hartspierweefsel. Daarbij speelt ook de directe omgeving van de longaders zoals het hartzakje (pericard) en longweefsel een rol omdat deze andere elektrische en mechanische eigenschappen hebben. Daarnaast is het bestaan van een 'heat sink' (afvoer van warmte en energie door langstromend bloed) een essentiële conditie die alleen in vivo te onderzoeken is. Deze aspecten zijn naar onze mening alleen in een levend proefdier te onderzoeken.

Maatschappelijk belang: Invasieve behandeling middels catheterablatie geniet steeds meer de voorkeur boven medicamenteuze interventie bij patiënten met atrium fibrilleren. Door een veiligere en kortere behandeling zouden meer patiënten behandeld kunnen worden.

Wetenschappelijk belang: Catheterablatie bij patiënten met atrium fibrilleren is redelijk succesvol, maar de duur van de thermische RF-methode en de risico's hierbij zijn voor verbetering vatbaar. Mogelijk is DC-ablatie een snellere, succesvollere en veiligere methode.

afbeelding 1 (rechtsboven): de gebruikte lasso-catheters: device D heeft 10 separate elektroden op de lasso, device M bestaat uit één enkele grote elektrode; boven de lasso's zit nog een neutrale ring. Deze ring zorgt enerzijds voor dat tussen de hartspier en het hartzakje om het hart (pericard) een kolom bloed staat die de natuurlijke omgeving van DC-shocks in de later klinisch beoogde longader-omgeving nabootst, en anderzijds in combinatie met de druk van het opgerekte hartzakje, dat de lasso tegen de hartspier aangedrukt wordt.

afbeelding 2 (rechtsonder): nadat de DC-shock gegeven was, en de lasso verwijderd werd, was snel een wittige verkleuring te zien op de hartspier; deze wittige verkleuring is de beschadiging die werd aangebracht door middel van DC-ablatie met 200 joules over de lasso met 8 elektroden (device D). Met uitgebreid weefselonderzoek werd later gekeken naar de diepte van de beschadiging door de hartkamerwand; het midden, waar geen elektroden van de lasso-catheter waren, is gespaard gebleven, getuige de normale kleur van het hartspierweefsel alhier.



3.1.h Toepassing van Toll-like receptor 2 antagonisten in myocard infarct: een pre-klinische studie Het toepassen van een nieuwe antistof als medicijn bij een hartaanval

Achtergrond: Jaarlijks sterven er in Nederland meer dan 6.400 patiënten aan de gevolgen van hartfalen. Dit aantal neemt per jaar met 2% toe. In totaal leven er ongeveer 220.000 patiënten in Nederland met hartfalen. De gevolgen van hartfalen zijn enorm. Naast een hoge kans op overlijden (20% binnen 1 jaar), is het niet meer kunnen inspannen zonder daarbij doodsbenauwd te worden de belangrijkste klacht.

Een belangrijke oorzaak voor de toename van hartfalen is het feit dat steeds meer patiënten een hartaanval overleven en ook daarmee ouder worden. Helaas heeft dit succes een keerzijde. Doordat steeds meer patiënten een hartaanval overleven, kampen zij met een hartspier die voor een deel afgestorven is. Het beschadigde hart kan daardoor op den duur uitzetten en qua pompfunctie inleveren. Dan ontstaat er hartfalen.

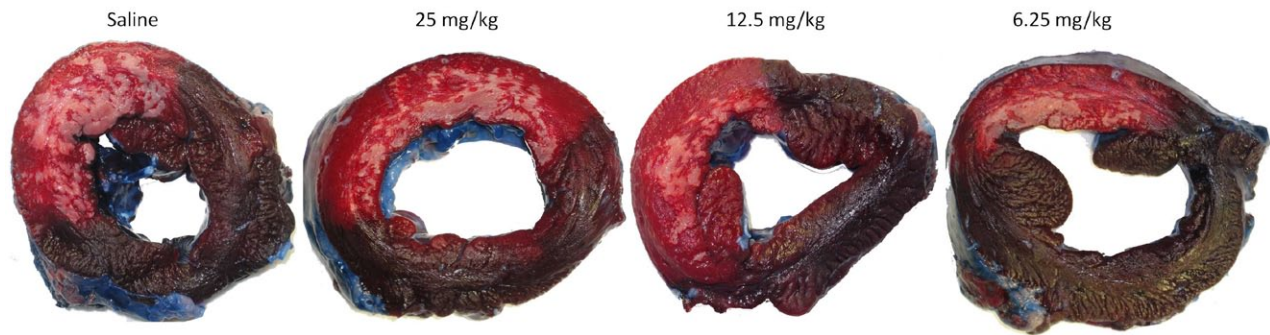
Doel/hypothese: Het is dus belangrijk om te zoeken naar behandelingsmogelijkheden die ervoor zorgen dat de schade aan het hart zo beperkt mogelijk blijft na een hartaanval. Daarmee wordt ook de kans op het krijgen van hartfalen kleiner.

Wanneer iemand een hartaanval krijgt, zal zijn lichaam proberen het hart te repareren door in het hart een ontstekingsreactie te veroorzaken. Deze ontstekingsreactie wordt gestuurd door ons immuunsysteem. Helaas is ons immuunsysteem niet geprogrammeerd om een hartaanval te repareren. Hierdoor doet de ontsteking meer kwaad dan goed. Het aanpakken van de kwaadaardige ontstekingsreactie na een hartaanval, zou een nieuwe manier kunnen zijn om de kans op hartfalen te reduceren.

Wij hebben ontdekt dat bepaalde voelsprietten op witte bloedcellen verantwoordelijk zijn voor de kwaadaardige ontstekingsreactie. Wanneer wij die voelsprietten uitschakelen met een antistof zien we dat de schade aan het hart 40% kleiner is. Op de lange termijn zien we in de proefdieren die wij de antistof hebben toegediend, dat de hartfunctie veel beter is en het hart minder uitzet.

Opzet van het onderzoek: Deze proeven hebben we eerst in muizen gedaan. Toen het succesvol bleek, hebben we de proeven in varkens herhaald, omdat het varkenshart het meeste lijkt op een mensenhart. Tot onze vreugde zagen we ook in varkens 40% minder schade wanneer de antistof werd toegediend bij een hartaanval.

Inmiddels zijn de eerste studies afgerond in gezonde vrijwilligers. We weten nu dat de nieuwe antistof veilig is om toe te dienen in mensen. De volgende stap is om nu ook patiënten die een hartaanval krijgen te behandelen met deze nieuwe antistof. Als dan ook blijkt dat patiënten met een hartaanval baat hebben bij deze antistof, dan betekent dat een hele grote doorbraak. Voor het eerst zullen we dan in staat zijn om na een hartaanval, de kwaadaardige ontstekingsreactie te remmen.



Doorsnede door het hart van varkens na opwekken van een hartinfarct en aansluitend geen behandeling (links = controle) of behandeling met verschillende doseringen antistof

En hopelijk kunnen we daarmee patiënten een gelukkiger en gezonder leven laten leiden na een hartaanval.

Het moge duidelijk zijn dat de ontwikkeling van een nieuw medicijn niet eenvoudig is. Eerst dient het effect in een kleine proefdiersoort bewezen te worden. Hiervoor kunnen muizen of ratten worden ingezet. Vervolgens moet een eventueel succes herhaald worden in een diersoort die dichterbij de mens staat. Wanneer alle dierproeven succesvol zijn, moet het nieuwe middel in gezonde mensen worden getest voor de veiligheid en bijwerkingen. Pas daarna kan het in patiënten toegepast worden. Wij zijn inmiddels 6 jaar bezig en de eerste patiënt is nog niet getest met de nieuwe antistof. De verwachting is dat het in totaal 12 jaar duurt voordat deze antistof standaard gebruikt kan worden in ziekenhuizen.

Afweging ongerief versus belang: Een belangrijke vraag die altijd wordt gesteld is: is het niet zielig voor de dieren die in die proeven worden ingezet? Dit is een heel belangrijk punt, waar we in Utrecht heel voorzichtig mee omgaan. We proberen zo veel mogelijk te zoeken naar alternatieven voor dierproeven. Daarbij kan gedacht worden aan schaalmodellen met cellen die gekweekt worden of computermodellen die ziekteprocessen kunnen voorspellen. Helaas is een ziekte als een hartaanval en hartfalen zo ingewikkeld dat een vereenvoudiging van deze ziektes tot een schaalmodel niet mogelijk is. Dit komt omdat bij een hartaanval diverse celtypen betrokken zijn (spiercellen, witte bloedcellen, steuncellen, bloedplaatjes enz.) die nauw met elkaar samenwerken. Het is daarom onmogelijk om al deze typen cellen in een schaalmodel te combineren, dusdanig dat een hartaanval (laat staan de reparatie erna) na te bootsen is.

Daarnaast zorgen we er, in samenwerking met dierenartsen en proefdierdeskundigen, voor dat de dieren zo min mogelijk lijden in een proef. Dit houdt in dat we heel streng in de gaten houden of een dier pijn heeft en of het dier ernstige klachten overhoudt na een proef. Wanneer wij merken dat ondanks pijnmedicatie en andere voorzorgsmaatregelen het dier te veel lijdt, stoppen we de dierproef om nog meer ongemak te voorkomen. Als laatste streven we er ook naar om zo veel mogelijk informatie te verkrijgen uit zo min mogelijk dieren. We hebben hier handige rekenmodellen voor, zodat de aantallen benodigde dieren beperkt kunnen worden.

Al met al, zijn er veel zeer kritische deskundigen betrokken bij dierproeven, die altijd de afweging maken of het ongemak van een dier opweegt tegen het opdoen van nieuwe kennis en ontdekken van nieuwe behandelingen.

3.1.i Anti-EDA behandeling: de ontwikkeling van een nieuw medicijn om hartfunctie te verbeteren en kans op hartfalen te verkleinen na een hartaanval

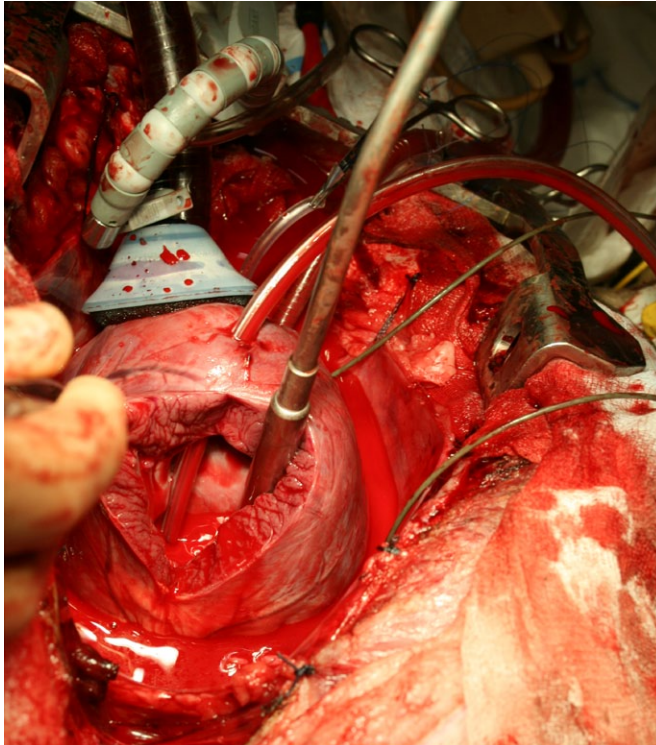
Achtergrond: Tijdens het herstel na een hartaanval wordt er tijdelijk een eiwit genaamd 'EDA' afgezet in het hart, die kwaadaardige activatie geeft van witte bloedcellen en steuncellen. Hierdoor ontstaat vergroting en slecht functioneren van het hart. Dit wordt hartfalen genoemd en geeft een zeer slechte kwaliteit van leven en verhoogt de kans op overlijden. Wij hebben in muizen aangetoond dat wanneer we de biologische activiteit van EDA remmen, de hartfunctie en overleving in de behandelde dieren verbetert. Nu willen we een nieuw medicijn ontwikkelen dat EDA als aangrijpingspunt heeft. Hiervoor dienen we experimenten te doen die de betrouwbaarheid, herhaalbaarheid en vertaling naar de mens toetsen.

Doel/hypothese: Het doel is om een nieuw medicijn te ontwikkelen om hartfalen na een hartinfarct te voorkomen. Hiervoor dient de effectiviteit en betrouwbaarheid van anti-EDA antistoffen in zowel kleine als grote proefdiermodellen aangetoond te worden.

Opzet van het onderzoek: Het onderzoek is trapsgewijs opgezet. Dit houdt in dat de volgende stap pas gezet kan worden wanneer eerdere proeven succesvol afgerond zijn. Allereerst zullen we de optimale dosering bepalen in de muis. Hierna zullen we deze dosering gebruiken om de effectiviteit te herhalen in ratten. Tegelijkertijd zullen we in varkens bepalen wanneer EDA in het aangedane hart opkomt om zodoende het optimale tijdstip te bepalen voor de behandeling. Wanneer de proeven met ratten succesvol zijn en wij het tijdsverloop van EDA afzetting in het varken hebben bepaald, zullen we overgaan op anti-EDA behandeling in het varken.

3.2 Dierproeven met varkens ten behoeve van onderwijs en training van medisch specialisten en dierenartsen in opleiding

3.2.a Titel studie: Cardiologische en Cardiothoracale onderwijs projecten



Geopend linker ventrikel van het varkenshart tijdens oefenoperatie terwijl de vitale functies van het dier door een externe hart-longmachine worden onderhouden

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: De cardiologische en hartchirurgische zorg wordt steeds technischer en complexer, met name vanwege de door de patiënten gewenste minder invasieve nieuwe behandelingsmethoden. Onderwijs/vaardigheidstraining wordt gegeven door ervaren docenten voor medisch specialisten en voor ondersteunend personeel. Het leerdoel is dat (minimaal invasieve) innovatieve complexe cardiologische en cardiothoracale behandelingstechnieken en (diagnostische) methoden met voldoende vaardigheid aangeleerd worden om nadien veilig in de mens te kunnen worden toegepast.

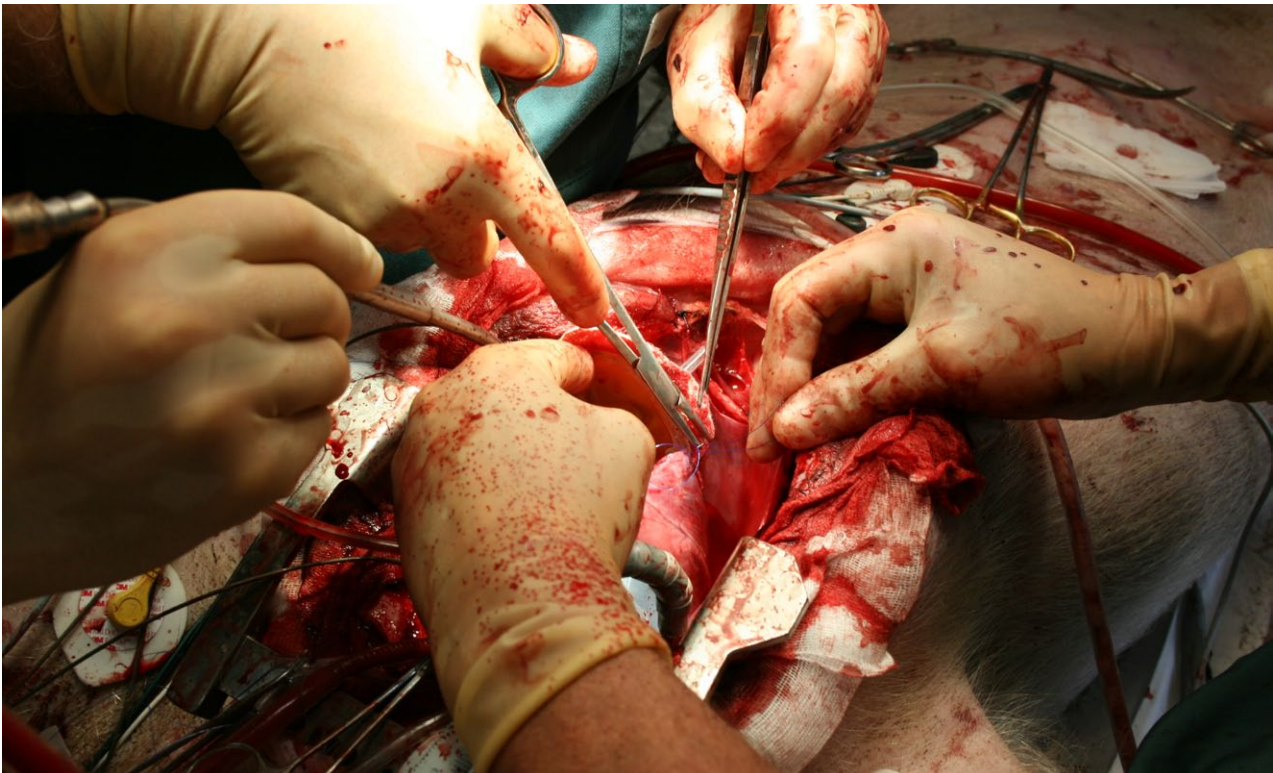
In geval van complicaties die kunstmatig kunnen worden veroorzaakt, kan de medisch specialist samen met het team de juiste beslissingen leren nemen. Het is van maatschappelijk belang dat de patiënten een optimale behandeling aangeboden wordt. De ervaringen die opgedaan worden bij de trainingen vergroten de kennis en kunde van de behandelaars, hetgeen aan het wetenschappelijk belang bijdraagt.

Opzet van het onderwijs: De proefdieren (varken en schaap), waarvan het hart en circulatie sterk verge-

lijikbaar zijn met die van de mens, ondergaan onder volledige narcose nauwgezet dezelfde ingreep/diagnostisch onderzoek, zoals bij de patiënt zal worden toegepast. Het betreft ingrepen aan de (krans)slagaderen, kleppen, de hartspier en de longen. De (minder invasieve) omstandigheden met de te verwachten operationele problemen worden protocollair nagebootst. Nadien kan het weefsel en de ingreep (bijvoorbeeld klepprothese inhechten, de bypass) op de correctheid van toepassing

worden gecontroleerd zodat de behandelaars hun werkwijze teruggekoppeld krijgen. De proefdieren komen niet meer bij uit de algehele narcose, zodat het ongerief als gering aangemerkt mag worden. Waar mogelijk wordt voorafgaand aan het onderwijs in het proefdier training gegeven met een (computer)simulatie, een slachthuishart of (kunst) bloedvaten. Daarmee wordt het gebruik van proefdieren verminderd.

Hechten van een externe dubbelwandige 'patch' op het linker ventrikel waarmee de pompfunctie na een hartinfarct kan worden ondersteund



3.2.b Onderwijs assistenten chirurgie

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het betreft vaardigheidsonderwijs voor assistenten die in opleiding zijn tot chirurg. Bewust is er voor gekozen per onderwijssessie één proefdier (varken) te reserveren voor één oudere jaars (jaar 4 tot 6) en één jongere jaars (jaar 1 tot 3). Dit teneinde enerzijds het aantal benodigde proefdieren tot een minimum te beperken, maar anderzijds ook ruim voldoende aandacht en tijd aan de individuele assistent te kunnen besteden. Bovendien is in de 12 jaren dat dit onderwijs geven wordt duidelijk gebleken dat de assistenten ook veel leren door elkaar te assisteren. Er bestaan verplichte landelijke cursussen voor assistenten in opleiding tot chirurg waarin specifieke basale vaardigheden, zoals hechten en knopen, worden onderwezen. Daarnaast bestaan er verplichte cursussen voor het aanleren van basale endoscopische technieken (sleutelgatchirurgie). Deze kunnen prachtig op simulatieprogramma's op de computer worden geoefend. Dit geldt echter niet

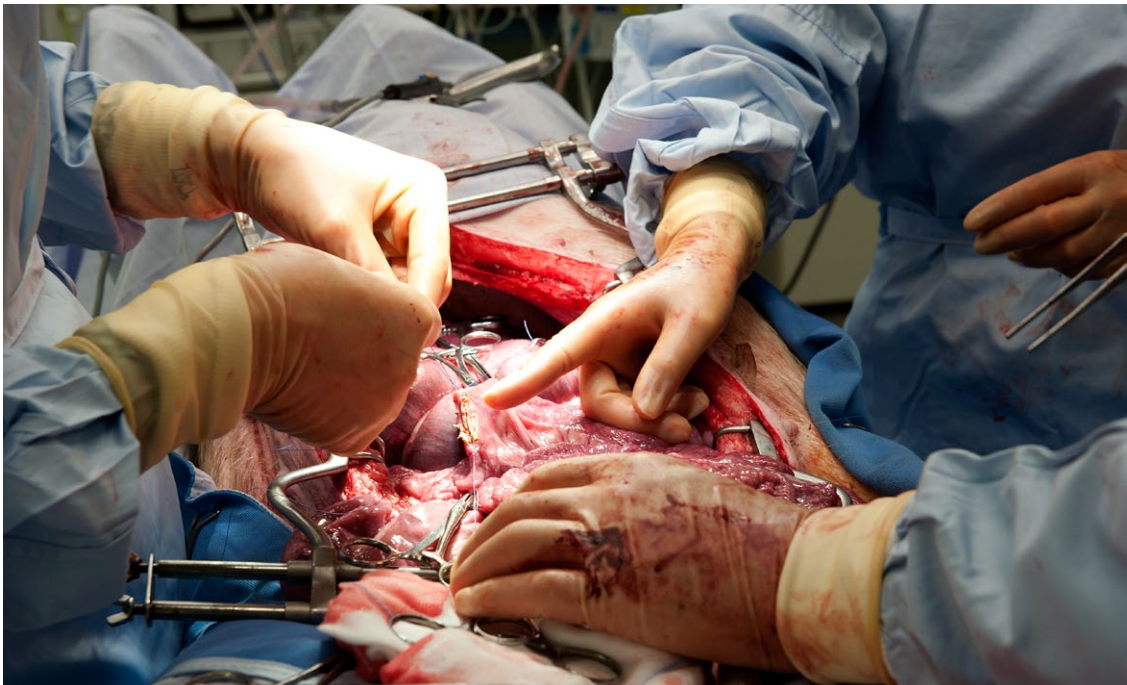
De chirurg instrueert de assistenten in opleiding



voor de conventionele 'open' chirurgie, zodat deze doorgaans tijdens operaties op de patiënt worden aangeleerd. De opleiders vinden dit geen optimale situatie en hebben er voor gekozen een aantal niet in voornoemde cursus onderwezen technische handelingen op een levend organisme te onderwijzen, met een anatomie die in ieder geval vergelijkbaar is met die van de mens. Zodoende is gekozen voor het onderwijs op geanesthezeerde varkens. Bovendien kunnen aan het einde van dergelijke onderwijssessies ook spoedeisende chirurgische handelingen worden gedoceerd, hetgeen op geen enkele andere wijze mogelijk is. Het varken is vanaf het begin van de operatie onder algehele narcose en komt niet meer bij uit de narcose.

Opzet van het onderwijs: De onderwijssessies beslaan vrijwel een gehele dag waarbij begonnen wordt met laparotomie (openen van de buik). Vervolgens wordt een aantal ingrepen geoefend, welke in onderling overleg tussen leermeester en beide assistenten van te voren zijn afgestemd. Zodoende kunnen de assistenten zich goed voorbereiden en kan ook gericht gewerkt worden aan 'problem sol-

ving' ten tijde van de operatie. Ook dit is iets dat op geen enkele andere wijze kan worden onderwezen. Het uiteindelijke doel is de assistenten een belangrijke stap voorwaarts op de leercurve te doen zetten. Met de huidige bezetting wordt iedere assistent tenminste tweemaal per jaar aan dergelijke onderwijssessies onderworpen. Deze onderwijsopzet wordt door zowel stafleden als assistenten hogelijk gewaardeerd.



De chirurg instrueert de assistenten in opleiding

3.2.c Koepelaanvraag onderwijs varkensgezondheidszorg

Achtergrond/leerdoel/doelgroep: De student Diergeneeskunde dient zich tijdens zijn opleiding, naast theoretische kennis, ook handvaardigheden en inzicht eigen te maken. Hiervoor zijn handelingen aan dieren noodzakelijk, niet alleen in het observeren van gedrag of het correct hanteren van dieren,

maar ook het uitvoeren en interpreteren van klinisch en laboratoriumonderzoek. Dieren worden geïnspecteerd en onderzocht in hun eigen leefomgeving (een varkensbedrijf), of dieren worden er speciaal voor aangekocht, teneinde de studenten inzicht te laten verkrijgen in aandoeningen die niet voorkomen op dat betreffende varkensbedrijf en hen te leren redeneren vanuit de bij die aandoeningen behorende verschijnselen.

Opzet van het onderwijs: De dieren worden zoveel als mogelijk is op een bedrijf geobserveerd/gehanteerd en klinisch onderzocht. Tevens biedt inspectie/onderzoek op een bedrijf de mogelijkheid om naast individuele dieren de interactie van de dieren met elkaar te observeren en de relatie met de leefomstandigheden te leggen. Indien noodzakelijk worden dieren aangekocht om de student



Instructie vaccineren big

ook te onderwijzen in aandoeningen die niet op dat bedrijf voorkomen en inzicht te verkrijgen in de pathofysiologische achtergronden van de aandoeningen. De dieren kunnen tijdens het verblijf in de onderwijsstal uitgebreider worden onderzocht en ook post mortem aan een uitgebreide inspectie worden onderworpen.



3.3 Dierproeven met varkens ten behoeve van onderzoek naar infectieziekten en het afweersysteem

3.3.a Effect van gecombineerde besmetting met *Streptococcus suis* serotypes 2 en 9 op kolonisatie vermogen van beide serotypes bij varkens

Achtergrond: *Streptococcus suis* (*S. suis*) is een algemeen voorkomende bacterie in de varkenshouderij en veroorzaakt bij jonge biggen vaak ziekteverschijnselen als hersenvliesontsteking, hartklepontsteking en sterfte. Dit veroorzaakt veel welzijnsproblemen bij de biggen en economische schade voor de varkenshouder. Bovendien worden ter preventie en behandeling van *S. suis* infecties veel antibiotica gebruikt, wat kan leiden tot antibioticum resistentie. Terugdringen van het antibioticumgebruik in de veehouderij is een belangrijke doelstelling in de veterinaire en humane gezondheidszorg. Dit vraagt om andere maatregelen om problemen ten gevolge van *S. suis* infecties aan te pakken. Maatregelen kunnen zijn gericht op het voorkomen van ziekte, maar ook op het voorkomen van het besmet raken van varkens met *S. suis*. Tot nu toe werd, naast behandeling met antibiotica, vaak gevaccineerd. Er zijn van de ziektekiem echter 33 verschillende types bekend, die variëren in ziekteverwekkende eigenschappen. Vaccinatie tegen het ene type beschermt niet per se tegen infectie van een ander type.

Tot voor kort was serotype 2 de meest gevonden ziektekiem, maar in West-Europa is de laatste jaren serotype 9 vaker geïsoleerd. Het is belangrijk te begrijpen waarom, want het kan zijn dat eliminatie van het ene type de weg vrijmaakt voor kolonisatie door een ander type, waardoor een maatregel nauwelijks effect kan hebben, of zelfs een ongewenst effect.

Doel/hypothese: Doel van dit onderzoek is om te onderzoeken of de twee meest geïsoleerde serotypes, namelijk type 2 en type 9, verschillen in koloniserend vermogen en of ze elkaars koloniserend vermogen beïnvloeden. De onderliggende hypothese voor dit experiment is dat een serotype 9 stam beter in staat is om slijmvliezen te koloniseren dan serotype 2 en dat een infectie met type 9 leidt tot verdringing van type 2.

Opzet van het onderzoek: Via een keizersnede zijn *S. suis*-vrije biggen verkregen, die vervolgens met kunstmelk zijn opgegroeid. Op de leeftijd van 4 weken werden drie groepen geformeerd (A, B, C) met ieder 11 paar biggen. Daarna werd per paartje één big besmet door een oplossing met *S. suis* in de neus te druppelen. Dit gebeurde bij groep A met serotype 2, bij groep B met serotype 9 en bij groep C met een mengsel van beide serotypes. De andere big van het paartje werd blootgesteld aan de ziektekiem door contact met de besmette hokgenoot. Dagelijks werden veegmonsters genomen van mondslijmvlies, neusslijmvlies en keelamandelen. In deze monsters werd bepaald hoeveel *S. suis*

kiemen aanwezig waren per dag. Deze resultaten werden gebruikt om de mate van kolonisatie en de overdracht naar de contactbig vast te stellen.

In alle paartjes vond snel uitscheiding plaats van beide types en overdracht vond plaats binnen enkele dagen na blootstelling. Er werd geen aanwijzing gevonden van verdringing van een type door het andere serotype.

Verantwoording diergebruik: Verspreiding van bacteriën is sterk afhankelijk van het contact tussen dieren, hun besmettelijkheid en vatbaarheid voor infectie. Voor het bestuderen van transmissie zijn dus vooralsnog levende dieren vereist. Om de vertaling van de onderzoeksresultaten naar het veld zo goed mogelijk te kunnen maken, heeft het de voorkeur om in de experimenten de natuurlijke gastheer van *S. suis*, te weten het varken, te gebruiken.

Maatschappelijk belang: Inzichten van dit onderzoek kunnen aanknopingspunten opleveren voor andere maatregelen om *S. suis* gerelateerde problemen te voorkomen. Hiermee kan het welzijn van varkens worden verbeterd en wordt bijgedragen aan het beperken van de huidige problematiek van antibioticum resistentie.

Wetenschappelijk belang: Van *S. suis* is nauwelijks iets bekend over de oorzaak van wisselingen in serotypes in de varkenspopulatie. Ook bij humane infecties worden dergelijke observaties wel gedaan. Enerzijds kan dit onderzoek fundamentele kennis genereren over de verdringingshypothese, zowel humaan als veterinair. Anderzijds kan onderzoek in de natuurlijke gastheer van belang zijn voor humane studies, waar vaak voor fundamentele vragen gebruik moet worden gemaakt van kunstmatige diermodellen. Dit onderzoek, met *S. suis* bij varkens, zou daarmee een goed model kunnen zijn voor bacteriële infecties bij de mens.

Afweging ongerief versus belang: Infecties met *S. suis* veroorzaken een aantasting van dierwelzijn door de optredende ziekteverschijnselen. Inzicht in de verspreiding van *S. suis* serotypes tussen varkens is daarvoor belangrijk. De experimenten zijn zo opgezet dat de kolonisatie en de transmissie van de bacterie kan worden bestudeerd en het ontstaan van ziekte zoveel mogelijk wordt beperkt. Ter voorkoming van ernstig lijden, wordt vooraf een humaan eindpunt bepaald. Het inzetten van proefdieren in dit experiment kan op termijn bijdragen aan vermindering van ziekte en sterfte in de varkenshouderij en aan vermindering van de resistentieproblematiek.

3.3.b Vergelijken van de effectiviteit van injecteren van ijzerdextraan bij biggen op leeftijd van 3 dagen, door middel van intramusculaire injectie en naaldloze injectie

Achtergrond: Biggen worden geboren zonder veel ijzervoorraad, ook de zeug geeft niet voldoende ijzer via de melk aan de big. Hierdoor ontwikkelen de biggen bloedarmoede. Om dit tegen te gaan,

krijgen de biggen op 3 dagen leeftijd een injectie met ijzertextraan. In deze studie wordt gekeken of de biggen dit ijzerpreparaat nog steeds nodig hebben. Daarnaast wordt gekeken of naaldloos injecteren een methode is die dezelfde resultaten als intramusculair injecteren geeft met betrekking tot de in het bloed te meten haemoglobine-concentratie. Tevens zal de groei meegenomen worden. *Doel/hypothese:* Biggen die ijzer toegediend krijgen zullen beter functioneren en groeien dan biggen die geen extra ijzer toegediend krijgen. Daarnaast zal er geen verschil zijn in bloedwaardes in de groepen naaldloos injecteren en intramusculair injecteren.

Opzet van het onderzoek: Er worden 3 groepen gemaakt van 24 biggen, een controlegroep, een groep die naaldloos wordt geïnjecteerd en een groep die een gewone injectie in de spiermassa krijgt. Op verschillende momenten worden buisjes bloed afgenomen. Deze worden gecontroleerd op verschillende parameters die ijzerafhankelijk zijn. Hierdoor wordt de vergelijking gemaakt in de verschillende groepen. In dit onderzoek wordt gekeken of de biggen het ijzerpreparaat op 3 dagen leeftijd nog steeds nodig hebben. Daarnaast wordt gekeken of een diervriendelijke manier van injecteren wellicht mogelijk is de varkenshouderij.

3.3.c Kinetiek van Alkalische fosfatase



Achtergrond: Alkalische fosfatase (AP) vervult verschillende functies in het organisme als een enzym dat in staat is verschillende substraten te defosforileren (ontgiften), zoals nucleotiden en bacteriële endotoxinen. Beide substraten zijn betrokken bij acute en chronische ontstekingsreacties. Het gevolg hiervan is dat zowel bacteriële producten van buiten als stoffen die vrijkomen uit beschadigde cellen ontgift worden door dit enzym en ontstekingsreacties voorkomen worden. De effectiviteit als ontstekingsremmer is aangetoond van alkalische fosfatase geïsoleerd uit runderdarmen. Dit voor de mens lichaamsvreemde eiwit kan vanwege mogelijke immunologische reacties slechts kortdurend worden gebruikt. Daarom wordt nu een recombinant humaan alkalische fosfatase (rhAP) ontwikkeld. Dit rhAP

Bloedafname via een permanente catheter in de bloedbaan

eiwit wordt geproduceerd in een menselijke cellijn en is identiek aan het enzym dat bij de mens van nature aanwezig is.

Doel/hypothese: Recombinant humaan alkalische fosfatase (rhAP) is in ontwikkeling als geneesmiddel voor behandeling van ontstekingsaandoeningen. Vaststellen van een goed doseringsschema is hierbij van belang.

Opzet van het onderzoek: Effectiviteit wordt bestudeerd in een muizenmodel, waarbij de koortsreactie op LPS (een koortsverwekker) toediening bestreden wordt met rhAP. Hoe snel het rhAP verspreid wordt in het lichaam wordt bestudeerd in varkens voorzien van een vaste catheter in de bloedbaan (vena jugularis catheter) waaruit frequent kleine bloedmonsters verzameld worden na rhAP toediening.

Verantwoording dier(varken)gebruik: Het varken kan met een eenvoudige operatie geschikt gemaakt worden voor intraveneuze toediening van geneesmiddelen en bestudering van de kinetiek (verdwijning) hiervan via regelmatige bloedafname.

Maatschappelijk belang: Het betreft de ontwikkeling van een geneesmiddel voor de behandeling van chronische ontstekingsaandoeningen, zoals reuma, multiple sclerose en atherosclerose. Van het rund afkomstige alkalische fosfatase, alleen geschikt voor behandeling van acute ontstekingsaandoeningen, is thans in klinische fase 3.

Wetenschappelijk belang: Het is van belang meer inzicht te verkrijgen in de rol van ectofosfatases, waarvan alkalische fosfatase een onderdeel vormt, in het functioneren van het aangeboren immuunsysteem.

Afweging ongerief versus belang: Het ongerief voor de varkens is matig. Het nieuwe product rhAP kan een belangrijk geneesmiddel worden met grote gezondheidswinst en overeenkomstige markt potentie.

3.3.d Voorstudie om te bepalen of faagtherapie (toedienen van virussen om bacteriën te doden) de hoeveelheid MRSA (ziekenhuisbacterie) in de neus van varkens vermindert

Achtergrond: Methicilline Resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) kennen we onder de naam ziekenhuisbacterie. Sinds 2004 komt deze op grote schaal voor bij landbouwhuisdieren zoals varkens en vleeskalveren. Mensen die met deze dieren werken, kunnen besmet raken met MRSA. Dit is een probleem als deze mensen opgenomen moeten worden in een ziekenhuis.

Het bestrijden van de bacterie bij dieren is de meest effectieve manier om besmetting bij de mens te voorkomen. Het gebruik van antibiotica moet zoveel mogelijk worden teruggedrongen en dit is dus geen reële optie voor een behandeling. Bacteriofagen (virussen die bacteriën kunnen doden)

worden bij zogenaamde 'faagtherapie' gebruikt voor de behandeling van bacteriële infecties bij mens en dier. Voor de bestrijding van MRSA in dieren is dit nog niet toegepast. In het laboratorium is MRSA gemakkelijk te doden met deze bacteriofagen. In dieren zijn er echter problemen voorstelbaar (bijvoorbeeld aanwezigheid van snot, holtes waarin de bacterie schuil gaat) waardoor deze afdoding van de bacterie minder goed gaat.

Doel/hypothese: Het doel van de studie is om te bepalen of er een afname van MRSA-bacteriën in de neus van varkens is na behandeling met bacteriofagen.

Opzet van het onderzoek: Biggen worden via een keizersnede geboren en in isolatoren (soort couveuse) gehuisvest zodat we zeker weten dat ze niet met stafylokokken uit de omgeving worden besmet. Deze dieren worden in de isolator met MRSA besmet. In twee voorgaande experimenten is gebleken dat deze besmetting goed herhaalbaar is. Na besmetting worden de dieren in de neus behandeld met een gel waarin bacteriofagen zitten. Na (herhaalde) behandeling wordt met een wattenstaafje een monster uit het neusgat genomen en de hoeveelheid MRSA bepaald. Er worden 2 groepen (van ieder 4 biggen in 1 isolator) behandeld met fagen en 2 groepen (van ieder 4 biggen in 1 isolator) behandeld met de gel zonder faag (controle groep). De aantallen MRSA in de met bacteriofaag behandelde dieren worden vergeleken met de dieren die niet met faag zijn behandeld.

Verantwoording dier (varken) gebruik: Dit experiment kan niet zonder proefdieren worden uitgevoerd (bijvoorbeeld via computersimulatie) omdat de effectiviteit in het levende dier getest moet worden. Voor zover de experimenten in het laboratorium plaats konden vinden is dit al gebeurd. De experimenten vinden plaats in het 'doeldier' d.w.z. de diersoort waarbij ook de faagtherapie toegepast zou kunnen worden.

Maatschappelijk belang: MRSA besmetting bij dieren kan worden overgedragen naar de mens, waar dit een groot probleem vormt als deze mensen opgenomen moeten worden in een ziekenhuis. Er is dan een grotere kans op minder goed behandelbare infecties en de kosten voor de ziekenhuizen nemen sterk toe, onder meer door geïsoleerde verpleging.

Wetenschappelijk belang: MRSA in landbouwhuisdieren is een relatief recent probleem. Er is momenteel nog geen wetenschappelijk onderbouwde oplossing om dit probleem aan te pakken. Als faagtherapie bij dieren zou blijken te werken, kan dit mogelijk ook bij de mens zelf toegepast worden.

Afweging ongerief versus belang: De mate van ongerief bij de varkens is gering; de bacterie vermeerderd in de neus zonder dat de dieren er last van hebben (zoals ook bij de mens het geval is). De behandeling met de vloeibare gel geeft nauwelijks ongemak bij de dieren. De monsternamming geeft gering ongerief in de vorm van verzamelen van materiaal uit de neus met een wattenstaafje. De dieren worden in groepen gehuisvest zodat er sociaal contact is. Dit ongerief weegt op tegen de winst die te behalen is met een onderbouwde effectiviteit van faagtherapie.



3.3.e De invloed van oligosacchariden (koolhydraten, suikers) op het maag-darmstelsel en het immuunsysteem van de big

Achtergrond: Oligosacchariden komen in grote hoeveelheid voor in moedermelk en oligosacchariden zijn ook het hoofdbestanddeel in koemelk. In de laatste jaren is duidelijk gebleken, dat de juiste samenstelling van deze oligosacchariden in de voeding een positief effect heeft op de samenstelling en/of het metabolisme (stofwisseling) van de micro-organismen in de darm. De micro-organismen in de darm spelen niet alleen een belangrijke rol in de (menselijke) spijsvertering, maar er is ook een interactie tussen micro-organismen en cellen van het immuunsysteem, waarvan een groot deel in en rond de darmen gelokaliseerd is. Een gezonde microflora is dus van groot belang voor het immuunsysteem en daarmee voor de gezondheid.

Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is kennis verzamelen over de effecten van oligosacchariden op de microflora (micro-organismen in het maag-darmstelsel) en het immuunsysteem, zodat er nieuwe oligosacchariden ontwikkeld en getest kunnen worden voor gebruik in baby –en kindervoeding en medicinale voeding.

Opzet van het onderzoek: In dit onderzoek worden de effecten van oligosacchariden op het maag-darmstelsel en het immuunsysteem in de darm bestudeerd door middel van een op varkens gebaseerd diermodel, omdat de ontwikkelingsstadia van de darm in baby's sterk vergelijkbaar zijn met de situatie in biggen. De biggen komen via een normale bevalling ter wereld en krijgen in ieder geval 24 uur biest (eerste moedermelk) na de geboorte. Hierna krijg de biggen kunstmelk met of zonder toevoeging van oligosacchariden. De eerste groep wordt na 48 uur gedood om naar een acuut effect van de oligosacchariden op de darmen en de darmflora te kijken. De andere biggen krijgen tot aan de speenleeftijd (21 dagen) kunstmelk met of zonder oligosacchariden, zodat het langdurige effect van oligosacchariden bestudeerd kan worden.



Wegen van een big

foto links: Twee dagen oude biggen in groepshuisvesting

3.4 Dierproeven met varkens ten behoeve van onderzoek naar skeletaandoeningen

3.4.a Onderzoek naar het tijdsafhankelijke natuurlijke verloop van osteochondrose bij groeiende varkens en ontwikkeling van massadiagnostiek technieken

Achtergrond: Osteochondrose wordt beschouwd als de belangrijkste oorzaak van kreupelheid bij het varken. De aandoening wordt gekenmerkt door een verstoring van het natuurlijke proces van verbening van het kraakbeen in het uiteinde van lange botten. Het is een multifactoriële ziekte. Door de pijnlijkheid van de aandoening vermindert het welzijn van het varken.

Uit onderzoek bij paarden is bekend dat er tot een bepaalde leeftijd reparatie van de defecten kan optreden, na deze leeftijd is reparatie niet meer mogelijk. Kennis van dit proces bij varkens biedt de mogelijkheid om op het juiste moment preventieve maatregelen toe te passen en biedt mogelijk aanknopingspunten voor onderzoek naar osteochondrose bij de mens.

Doel/hypothese: Het onderzoek heeft twee doelen: Het vinden van het 'omslagpunt' waarna reparatie van het kraakbeen niet meer mogelijk is, en het vinden van diagnostische technieken die osteochondrose bij het levende dier kunnen identificeren.

Opzet van het onderzoek: 19 biggen worden vanaf hun geboorte gevolgd tot ze 2 maanden oud zijn. De biggen worden gehuisvest onder condities die het ontstaan van osteochondrose in de hand werken. Iedere 3 weken worden de dieren klinisch en röntgenologisch onderzocht, wordt met een zogenaamde 'footplate' een gangenanalyse gemaakt (observeren en elektronische meting van het looppatroon) en worden bloedmonsters genomen. Ook worden iedere 3 weken 5 dieren geëuthanaseerd waarna een MRI scan gemaakt wordt en gewrichtsvloeistof wordt afgetapt. Bij pathologisch onderzoek worden de defecten macroscopisch en microscopisch gescoord.

Verantwoording dier(varken)gebruik: Het proces waarbij het kraakbeen in de uiteinden van de lange botten verbeent, is zeer complex. Het is tot nu toe niet mogelijk om dit proces buiten het dier na te

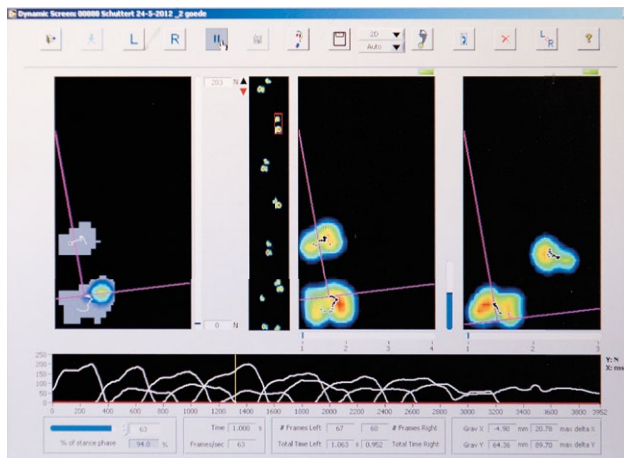


Varken op de footplate voor de analyse van het looppatroon

bootsen. Omdat er bovendien veel factoren invloed hebben op het verloop van de aandoening (onder andere huisvesting, voeding, trauma) kan de aandoening alleen maar zinvol bestudeerd worden in een levend dier.

De keuze voor het varken als proefdier is gemaakt op basis van het doel van de proef. Het lange termijn doel van dit onderzoek is het verminderen van osteochondrose in de varkenspopulatie. De aandoening wordt door veel factoren beïnvloed (o.a. huisvesting, voeding en trauma/belasting). Deze factoren zijn zeer specifiek voor de reguliere varkenshouderij in Nederland. Om uitspraken te kunnen doen die bijdragen aan het verminderen van de osteochondrose problematiek bij varkens onder Nederlandse huisvestingsomstandigheden is het nodig deze omstandigheden zo veel mogelijk na te bootsen in de relevante diersoort, het varken.

Maatschappelijk belang: Het op een verantwoorde en diervriendelijke manier houden van varkens



Electronische weergave van pootafdrukken van het varken

voor vleesproductie krijgt steeds meer maatschappelijke aandacht. Osteochondrose is een pijnlijke aandoening die het welzijn van het varken vermindert. Door het optreden van osteochondrose te verminderen en het snel opsporen van dieren die toch aangetast zijn, kan een grote slag gemaakt worden in het verbeteren van het welzijn van varkens. Daarnaast kan kennis over het ziekteproces in het varken gebruikt worden om meer inzicht te krijgen in de aandoening bij andere soorten (inclusief de mens).

Wetenschappelijk belang: In het verleden is veel onderzoek gedaan om de risicofactoren voor osteochondrose bij het varken in beeld te krijgen. Het ontstaan van de aandoening en het verloop van het ziekteproces zijn echter veel minder goed onderzocht en informatie

hierover is schaars. Het 'omslagpunt' vanaf waar geen reparatie van kraakbeendefecten meer mogelijk is, is wel geïdentificeerd bij het paard, maar hiernaar is bij het varken nooit onderzoek gedaan. Ook de in vivo diagnostiek van osteochondrose bij het varken is sterk onderbelicht.

Afweging ongerief versus belang: De resultaten van het onderzoek kunnen het welzijn van grote aantallen varkens verbeteren. Het betreft een aandoening die in de reguliere varkenshouderij zeer veel voorkomt. Hierdoor is het niet nodig om de aandoening met bijbehorende belasting kunstmatig op te wekken. Er is gekozen voor een pilotexperiment om zo tot een verantwoordde keuze van het aantal benodigde proefdieren te komen en de gebruikte technieken te evalueren alvorens een studie met een grote groep varkens uit te voeren.

3.5 Dierproeven met varkens ten behoeve van onderzoek naar welzijn en gedrag

3.5.a Zijn biggen met een laag geboortegewicht pessimistischer dan biggen met een normaal geboortegewicht?

Achtergrond: Het kunnen beschikken over inzicht of een dier in een goede of een slechte stemming verkeert, is van groot belang om een juiste inschatting te kunnen maken van de welzijnstoestand van het dier. Omdat we het dier niet kunnen vragen hoe het zich voelt, moeten we andere manieren proberen te vinden om dit te weten te komen.

We weten dat stemming van invloed kan zijn op hoe de wereld wordt gezien en ervaren. Zo zal een optimist (goede stemming) zeggen dat het glas half vol is, maar een pessimist (slechte stemming) zal zeggen dat het half leeg is. Weten of een dier een optimist of een pessimist is, kan ons vertellen of ze in een goed of een slecht humeur zijn. Een 'cognitieve bias test' is een test die gedaan wordt met dieren om te zien of ze optimistisch of pessimistisch reageren. Een dergelijke test is niet eerder gedaan met varkens.

Bij de mens weten we dat kinderen geboren met een (zeer) laag geboortegewicht een groter risico lopen op het ontwikkelen van emotionele problemen op latere leeftijd. Bij varkens komt het regelmatig voor dat er biggen in hetzelfde nest geboren worden die veel kleiner zijn dan hun broers en zussen. Dit verschil kan zijn ontstaan doordat de kleinere biggen minder voedingsstoffen en zuurstof hebben gekregen tijdens de zwangerschap. De aanwezigheid van aanzienlijke verschillen in geboortegewicht bij het varken, maken deze diersoort een goed model om te bestuderen of zeer kleine biggen ook meer kans lopen op het ontwikkelen van emotionele problemen en daarmee een verstoord welzijn op latere leeftijd.

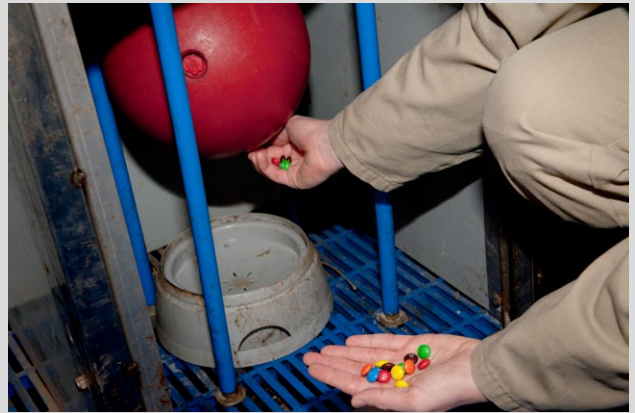
Doel/hypothese: Onderzoeken of varkens de 'cognitieve bias test' kunnen leren. Maar ook om te bestuderen of varkens geboren met een zeer laag geboortegewicht pessimistischer zijn ingesteld dan hun broers en zussen met een normaal gewicht.

Opzet van het onderzoek: Zes varkens met een normaal gewicht bij geboorte en zes varkens met een laag gewicht bij geboorte worden getraind om te reageren op twee verschillende geluiden. Het

foto's rechts: De twee-keuze-test, oftewel de cognitieve bias test



1



2



3



4



5



6

eerste geluid wordt beloond met een grote beloning, wanneer het dier de juiste keuze maakt, het tweede geluid resulteert in een kleine beloning bij de juiste keuze. Wanneer de varkens dit hebben geleerd, zullen verschillende combinaties van de twee geluiden worden afgespeeld. Een varken wordt bestempeld als optimistisch wanneer het dier het geluid inschat als 'de grote beloning', of pessimistisch wanneer het dier toont dat het verwacht de kleine beloning te krijgen. Het aantal keren dat een varken een optimistische keuze maakt, wordt gebruikt om te meten wat de emotionele toestand is waarin het dier zich bevindt.

3.5.b Vergelijken van de emotionele toestand in twee verschillende varkensrassen - vleesvarkens versus Göttingen minivarkens

Achtergrond: Verschillende varkensrassen worden op verschillende manier gehouden en gefokt, bijv. om te groeien (vleesvarkens) of speciaal om klein te blijven (minivarkens). Deze dieren verschillen in meer opzichten van elkaar dan alleen in uiterlijk. Verschillende honden- en paardenrassen hebben bijvoorbeeld verschillende persoonlijkheden; ze kunnen anders reageren op dezelfde situatie. In het onderzoek met varkens kijken wetenschappers vaak naar het gedrag van minivarkens en vleesvarkens alsof ze hetzelfde zijn, maar er zijn weinig studies die de verschillen en overeenkomsten goed in kaart hebben gebracht. Een eigenschap waarin de beide varkenssoorten mogelijk verschillen en daarmee het bestuderen ervan mogelijk interessant is, is de gemoedstoestand; is een bepaald ras angstiger dan het andere? Ze lijken op elkaar, maar een bepaald ras zou wel sterker kunnen reageren op een negatieve gebeurtenis dan een ander ras. Dit is ook van belang om hun welzijnsbehoeften te kunnen begrijpen. Omdat we het dier niet kunnen vragen hoe het zich voelt, moeten we andere methoden ontwikkelen om dit inzicht te verwerven.

We weten dat stemming van invloed kan zijn op hoe de wereld wordt gezien en ervaren. Zo zal een optimist (goede stemming) zeggen dat het glas half vol is, maar een pessimist (slechte stemming) zal zeggen dat het half leeg is. Weten of een dier een optimist of een pessimist is, kan ons vertellen of ze in een goed of een slecht humeur zijn. Een 'cognitieve bias test' is een test die gedaan wordt met dieren om te zien of ze optimistisch of pessimistisch reageren. Een dergelijke test is niet eerder gedaan met varkens.

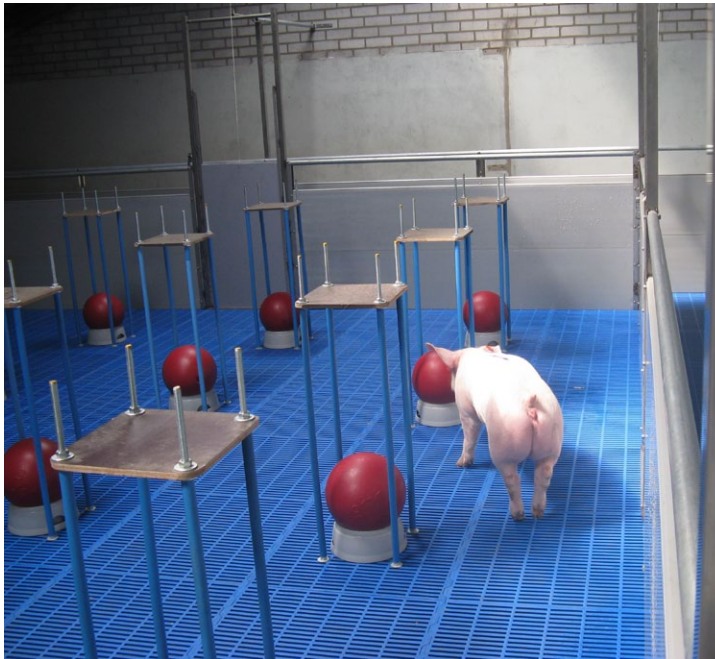
Doel/hypothese: de basale gemoedstoestand van twee verschillende varkensrassen bestuderen, maar ook het vergelijken van hun gemoedstoestand na een negatieve gebeurtenis.

Opzet van het onderzoek: Negen vleesvarkens en negen Göttingen minipigs worden getraind om te reageren op twee verschillende geluiden. Het eerste geluid wordt beloond met een grote beloning, wanneer het dier de juiste keuze maakt. Het tweede geluid resulteert in een kleine beloning bij de juiste keuze. Wanneer de varkens dit hebben geleerd, zullen verschillende combinaties van de twee

geluiden worden afgespeeld. Een varken wordt bestempeld als optimistisch, wanneer het dier het geluid inschat als 'de grote beloning', of pessimistisch wanneer het verwacht de kleine beloning te krijgen. Het aantal keren dat een varken een optimistische keuze maakt, wordt gebruikt om te meten wat de emotionele toestand is waarin het dier zich bevindt. De test zal dan herhaald worden met alle dieren die een korte periode van isolement voor en na het testen hebben ervaren, om te bestuderen of de dieren verschillen in gemoedstoestand na een negatieve gebeurtenis (isolatie).

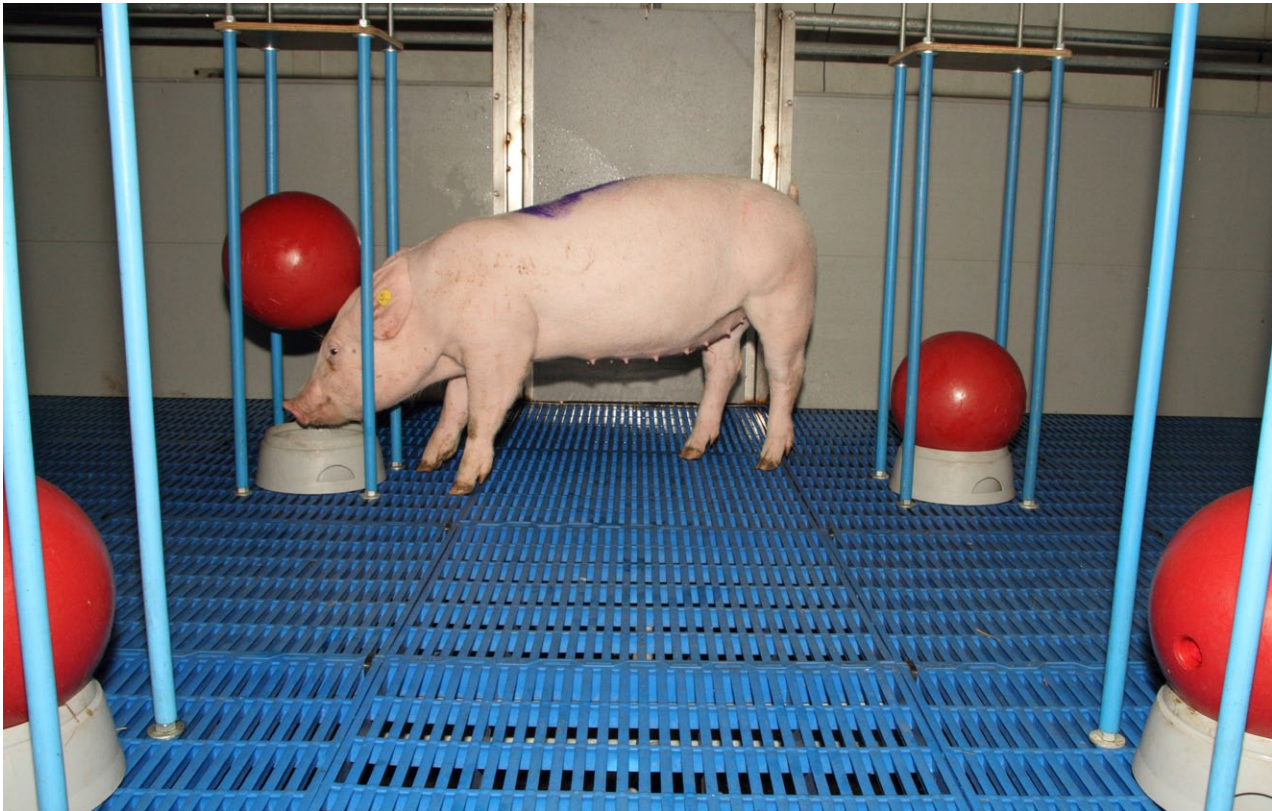
3.5.c Validatie van het spatueel cognitief varkens holeboard: een biperiden dosis-respons studie II

Achtergrond: Met behulp van de stof biperiden kan het geheugen van een mens of dier tijdelijk en op een milde manier worden verstoord. Varkens worden in een 'holeboard' testopstelling getraind om 4 gevulde en 12 onge vulde voerbakken van elkaar te onderscheiden. Vervolgens wordt biperiden in verschillende concentraties toegediend. Daarna kan worden onderzocht of deze testopstelling in staat is de prestaties van gezonde dieren te onderscheiden van die van dieren waar met biperiden het ruimtelijk geheugen is verstoord. Door verschillende doseringen te gebruiken, kan uiteindelijk een biperiden dosering gekozen worden, welke effectief is maar zo min mogelijk ongewenste bijwerkingen (zoals apathie) veroorzaakt.



Doel/hypothese: Door middel van deze studie kan de waarde van de holeboard test voor varkens (een test om leervermogen en ruimtelijk geheugen te kunnen meten) binnen het wetenschappelijk onderzoek verder worden bepaald. Daarnaast kan worden bepaald in welke dosering de stof biperiden het beste kan worden toegediend bij het varken.

Opzet van het onderzoek: 8 vleesvarkens en 8 minivarkens van circa 9 weken oud mogen allereerst gedurende korte tijd wennen aan de te gebruiken testopstelling. Hierna worden ze getraind, totdat ze een goede prestatie leveren (weinig onbeloonde voerbakken kiezen). Wanneer ze dit stadium hebben bereikt, krijgen de dieren 6 keer een dosis biperiden en 1 keer een controleoplossing toegediend. De stof wordt vermengd met hun dagelijkse voer



en wat water en honing en kan simpelweg opgegeten worden, voordat ze na 30 minuten opnieuw in de testopstelling worden gebracht. De prestaties van de dieren onder de verschillende condities worden geregistreerd, evenals de eventuele bijwerkingen. Als het holeboard een goede testmethode is, kiezen varkens met (hogere doses van) biperiden meer foute (dus lege) voerbakken. Het holeboard kan dan daarna ook voor andere ruimtelijke geheugentesten gebruikt worden.

Verantwoording dier(varken)gebruik: Omdat het varken steeds vaker wordt ingezet binnen cognitief onderzoek is het van belang gevalideerde taken te ontwikkelen, waarmee leervermogen en geheugen bestudeerd kunnen worden. Daarnaast worden voor dit soort onderzoek zowel vleesvarkens als minivarkens gebruikt, maar er is nooit eerder bestudeerd of er eigenlijk cognitieve of gedragsmatige verschillen bestaan tussen deze varkensrassen.

Maatschappelijk belang: Cognitief onderzoek met varkens kan zowel varkenswelzijn als mensenwelzijn ten goede komen. De kwaliteit dient echter gewaarborgd te worden en daar zijn validatiestudies voor nodig.

Wetenschappelijk belang: Biperiden heeft in mensen en knaagdieren bewezen geschikt te zijn om het geheugen tijdelijk te blokkeren. Omdat het varken nu vaker wordt ingezet voor dit soort onderzoek in plaats van knaagdieren, is het van belang te bepalen of biperiden ook geschikt is voor gebruik bij het varken en zo ja in welke dosering en toedieningsvorm.

Afweging ongerief versus belang: De gevolgen en bijwerkingen van biperiden zijn bekend vanuit het humane gebruik en zijn mild en van korte duur. Daarnaast is de holeboard taak een test waar de varkens graag aan meewerken (het levert ze iets lekkers op). Het ongerief van de dieren weegt in dit geval op tegen het belang voor de mens en de wetenschap.

3.5.d 1: Farmacokinetiek van allo- en oxypurinol in neonatale biggen na éénmalige maternale toediening pre-partum

2 en 3: Leerprestaties van groeivertraagde biggen in een cognitieve holeboard taak na prenatale behandeling met allopurinol

Studie 1 betreft het verkrijgen van noodzakelijke kennis over de juiste dosering van allopurinol om vervolgens de stap naar studie 2 en 3 te kunnen maken.

Achtergrond: De stof allopurinol is naar verwachting een middel dat kan worden ingezet om hersenschade in pasgeborenen (baby's en biggen) te kunnen beperken wanneer er sprake is van acute (tijdens de bevalling) of chronische (gedurende de zwangerschap) hypoxie (zuurstofgebrek) en/of ischemie (bloedtekort) in de hersenen. Deze problemen kunnen leiden tot levenslang gehandicapte kinderen met bijvoorbeeld cognitieve beperkingen. Er bestaan momenteel geen goede medicijnen die deze problemen kunnen bestrijden. Omdat dit probleem zich ook van nature voordoet in commercieel gehouden varkens, zal het varken voor dit onderzoek worden ingezet als modeldier.

Doel/hypothese: Door het meten van de plasmaspiegels (de in het bloed meetbare concentratie van een medicijn) van de stof allopurinol (en de omzetting oxypurinol) in pasgeboren biggen kunnen we bepalen of toediening van 20 mg/kg allopurinol aan de hoogdrachtige zeug leidt tot gewenste klinisch relevante spiegels. Wanneer de juiste dosering is bepaald, kan in een vervolgstudie worden bestudeerd of allopurinol mogelijk ingezet kan worden als preventieve therapie bij het varken ter voorkoming van biggen geboren met chronisch zuurstofgebrek of bloedtekort in de hersenen tijdens de dracht. Groeivertraging in biggen wordt gekenmerkt door een laag geboortegewicht.

Opzet van het onderzoek: Zeugen krijgen enkele dagen voor de verwachte werpdatum (+/- 113 dagen) 20 mg/kg allopurinol eenmalig oraal toegediend. Vervolgens wordt de zeug onder anesthesie gebracht en komen de biggen door middel van een keizersnede ter wereld. Bij de pasgeboren big-

gen wordt direct na de geboorte of na enkele uren bloed afgenomen om te bestuderen of orale toediening van 20 mg/kg allopurinol aan de moeder in de periode voor de geboorte leidt tot relevante plasmaspiegels. De gewenste spiegels zijn bekend vanuit humaan onderzoek.

In een vervolgstudie wordt een groep drachtige zeugen tijdens het laatste stadium van de dracht oraal behandeld met de stof allopurinol. Vlak voor de uitgerekende werpdatum worden de biggen door middel van een keizersnede of op natuurlijke wijze geboren en onder vergelijkbare omstandigheden opgefokt. Wanneer ze 4 weken oud zijn, worden ze onder andere getraind in de eerder gevalideerde 'cognitieve holeboard test', waarmee leervermogen en geheugen kan worden gemeten. Van alle zeugen worden zowel biggen gebruikt die geboren zijn met een laag als een normaal geboortegewicht. Ter controle (vergelijking) worden ook zeugen en biggen gebruikt die niet met allopurinol worden behandeld. Van alle betrokken dieren worden ook fysiologische parameters bestudeerd.

Verantwoording diersoort: Omdat het probleem van zuurstofgebrek tijdens de dracht veelvoorkomend is in het hedendaagse vleesvarken, is het gebruik van varkens om dit probleem te bestuderen voor de hand liggend. Er hoeft geen probleem 'gemaakt' te worden. Daarnaast werpt een varken gemiddeld 14 biggen per toom. In de praktijk hebben enkele van deze biggen last gehad van zuurstofgebrek en anderen niet. Dit maakt dat biggen van dezelfde moeder met en zonder aandoening met elkaar kunnen worden vergeleken. Deze studies moeten uitwijzen of het varken een geschikt diemodel is voor dit soort problemen.

Maatschappelijk belang: Zuurstofgebrek voor en tijdens de geboorte is een veelvoorkomend probleem bij de mens. Een deel van de met deze problemen geboren kinderen zal later in het leven in meer of mindere mate hinder ondervinden van deze gebeurtenis. Om dit te kunnen beperken, zijn preventieve therapieën noodzakelijk. Deze therapieën zullen eerst nader in dieren bestudeerd moeten worden voordat besloten kan worden of het zinvol en veilig is de stap naar mensen te maken.

Wetenschappelijk belang: Kwantitatieve studies in de mens hebben aangetoond dat er een verband is tussen lang of korter durend zuurstofgebrek in de baarmoeder of tijdens de bevalling met de latere cognitieve ontwikkeling van een kind. Om meer te weten te komen over dit proces en de mogelijke interventiemogelijkheden, kan een diemodel gebruikt worden. Het bepalen van de juiste dosering van allopurinol kan alleen aan de hand van herhaaldelijke bloedmonsters bij moeder en (pasgeboren) kind. Omdat dergelijk onderzoek bij de mens praktisch en ethisch onwenselijk is, gebruiken we hiervoor het varken.

Afweging ongerief versus belang: Het ongerief blijft beperkt. Er wordt enkele malen bloed afgenomen en tijdens de keizersnede is de zeug onder anesthesie. De beperkte mate van ongerief voor de dieren weegt op tegen het belang van het onderzoek.

Sint-Antonius voor de hemelpoort
(St. Antonius is beschermheilige van het varken en de
varkenshouderij)

Eindelijk stierven ze, en tegelijk,
en vertrokken samen naar het Hemelrijk.
“O wee, een varken, o wee een zwijn,”
riepen de joden en vielen in zwijm.
En ook de Turken kwamen in grote getale
om hun gram op het varken te halen.
Toen echter verscheen aan de hemelpoort
Onze Lieve Vrouw, en nam het woord:

“Welkom! Treedt binnen in vrede, gij beiden!
Hier wordt geen vriend van vriend gescheiden.
Wij laten zoveel schapen toe,
ook voor een braaf varken daarom geen taboe!”

Het varken knorde, de engelen hieven gezangen aan;
zo zijn ze samen naar binnen gegaan.

Wilhelm Busch, 1832-1908

Bijlage A1

Over het werken met proefdieren door medewerkers UMC Utrecht en Universiteit Utrecht

Naast de wettelijke voorschriften, vastgelegd in de Wet op de dierproeven (1977, aangepast in 1997), nader uitgewerkt in het Dierproevenbesluit (1985, 1996) en in een aantal Codes of Practice, hebben de vergunninghouders het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht een aantal administratieve en logistieke werkprocedures vastgelegd waaraan onderzoekers en opleiders die op het terrein van het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht dierexperimentele werkzaamheden willen verrichten, zich moeten committeren. In deze bijlage wordt kort stap-voor-stap uitgelegd welke handelingen een medewerker van het UMC Utrecht of de Universiteit Utrecht moet verrichten om dierexperimenteel onderzoek of onderwijs te mogen doen.

Voor een uitgebreide uitleg, zie het proefdierkundig jaarverslag 2009 en het DEC-jaarverslag 2010.

Wie mag met een proefdier werken?

Iedereen die binnen de faciliteiten van het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht een dierexperiment wil verrichten, moet bij de proefdierdeskundige van deze instellingen geregistreerd staan als artikel 9 of artikel 12 (van de Wet op de dierproeven) bevoegd.

Naast bevoegd moeten personen die handelingen aan dieren verrichten ook aantoonbaar bekwaam zijn. De vaststelling van de bekwaamheid gebeurt in de regel door de proefdierdeskundige. Het is niet ongebruikelijk dat de proefdierdeskundige daarbij de visie van andere personen met bekende bekwaamheid betreft.

Opstellen onderzoeksplan/onderwijsonderdeel voor de dierexperimentencommissie

Nadat diverse gremia akkoord zijn gegaan met het globale onderzoeksplan of onderwijsonderdeel, moet de onderzoeker of opleider voor het onderdeel waarbij hij met proefdieren gaat werken, toestemming vragen aan de vergunninghouder. Om een aanvraag voor dierexperimenteel onderzoek of onderwijs goed te kunnen beoordelen, vraagt de vergunninghouder advies aan een dierexperimentencommissie (DEC). De dierexperimentencommissie maakt op haar beurt ook gebruik van het advies van de proefdierdeskundigen.

Voor een nadere toelichting over de werkwijze van de DEC wordt verwezen naar het jaarverslag van de DEC-Utrecht (www.dec-utrecht.nl).

Besluit van de vergunninghouder

In de meeste gevallen neemt de vergunninghouder het advies van de DEC over en stuurt vervolgens binnen twee dagen na de DEC-vergadering de verantwoordelijk onderzoeker/docent een brief met dit besluit. In zeer bijzondere gevallen kan de vergunninghouder negatief oordelen over een positief advies van de DEC. De vergunninghouder kan nooit een negatief DEC-advies omzetten in een positief besluit.

Het verrichten van een dierproef zonder positief advies van de DEC en toestemming van de vergunninghouder wordt conform de Wet op de dierproeven beschouwd als een overtreding. Evenmin is het toegestaan de dierproef uit te voeren op een andere wijze dan door de DEC is goedgekeurd.

Aanmelding en goedkeuring werkprotocol bij de proefdierlocatie

Nadat de onderzoeker de toestemmingsbrief van de vergunninghouder heeft ontvangen, meldt de onderzoeker zich met de toestemmingsbrief aan bij de proefdierfaciliteit. Tevens beschrijft de onderzoeker gedetailleerd in een werkprotocol (WP) de dierproef op basis van wat in het C-deel van het DEC formulier staat vermeld. Het WP is bestemd voor de proefdierlocatie en dient ter goedkeuring voorgelegd te worden aan de proefdierlocatie alvorens de proef kan worden gestart.

Uitvoering dierproef

Bij de uitvoering van een dierproef is het niet toegestaan af te wijken van het DEC-formulier dat door de DEC is beoordeeld en van een positief advies voorzien. Het is ook niet toegestaan af te wijken van het werkprotocol zoals dat is goedgekeurd door de proefdierlocatie. Constatering van het verrichten van ingrepen in afwijking van de DEC formulieren/WP wordt conform de Wod beschouwd als een overtreding. In het WP dient de onderzoeker (art. 9), dan wel de persoon aan wie het is gedelegeerd, realisatiedata in te vullen en te paraferen om vast te leggen dat een (be)handeling is uitgevoerd. Voor een aanpassing van de DEC formulieren/WP is formeel toestemming van de DEC nodig. Bij kleine wijzigingen kan gebruik gemaakt worden van een versnelde procedure via de proefdierdeskundigen.

Tijdens de dierproef bijhouden van het welzijn

De dieren, evenals de omstandigheden waarin de dieren worden gefokt, gehouden of gebruikt, worden dagelijks minimaal eenmaal gecontroleerd. Daarnaast is voorgeschreven dat tijdens de uitvoering van de dierproef het welzijn van de proefdieren nauwkeurig wordt gecontroleerd door de onderzoeker dan wel de persoon aan wie dat gedelegeerd is en vastgelegd in een welzijnsdagboek.

Minimaal één maal per week wordt het welzijn geregistreerd, of zoveel vaker als relevant is. Zo is het aannemelijk dat dieren, waarbij optreden van ongerief ten gevolge van een behandeling wordt verwacht (bijvoorbeeld kort na het ondergaan van een chirurgische ingreep), vaker worden geobserveerd dan dieren waarbij geen welzijnsaantasting wordt verwacht. Een gedetailleerde inspectie van de dieren vindt plaats aan de hand van een vooraf door de onderzoeker opgestelde lijst van welzijns- (lees ongeriefs-) indicatoren ofwel klinische verschijnselen, die staat weergegeven in het WP en welzijnsdagboek (WZDB).

Afsluiten dierproef en opstellen welzijnsevaluatie

Nadat de laatste handelingen aan alle dieren zijn verricht, kan het dierexperiment als afgesloten worden beschouwd en dient de verantwoordelijk onderzoeker een welzijnsevaluatie op te stellen. De welzijnsevaluatie dient informatie te bevatten over het werkelijke ongerief dat de dieren hebben ervaren evenals onvoorziene omstandigheden, zoals die zich mogelijk hebben voorgedaan tijdens de uitvoering van de dierproef.

Jaarregistratie proefdieren en dierproeven

De overheid verlangt van alle vergunninghoudende instellingen dat zij over ieder kalenderjaar gedetailleerde informatie aanleveren over de balans van het aantal proefdieren en over alle dierproeven die werden verricht. Dit houdt in dat alle verantwoordelijk onderzoekers (art. 9) binnen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht die proefdieren in hun beheer (in fok, voorraad of experiment) hadden, dienen aan te geven welke aantallen dieren aanwezig waren op 1 januari en op 31 december en welke aantallen dieren werden aan- en afgevoerd. Daarnaast dient van alle dierproeven die in het bewuste kalenderjaar zijn afgerond een groot aantal details te worden aangeleverd.

Proefdierkundig jaarverslag 2011
met bijzondere aandacht voor het varken

Over de rol van dierproeven in het wetenschappelijk onderzoek en onderwijs van het
Universitair Medisch Centrum Utrecht en de Universiteit Utrecht
©2012 Universitair Medisch Centrum Utrecht en Universiteit Utrecht



Universitair Medisch Centrum
Utrecht



Universiteit Utrech