



K O N I N K L I J K E N E D E R L A N D S E
A K A D E M I E V A N W E T E N S C H A P P E N

Proefdierkundig verslag

Institutenorganisatie KNAW
2009 – 2010

Amsterdam, juni 2012



2012 Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW)

© Sommige rechten zijn voorbehouden / Some rights reserved

Voor deze uitgave zijn gebruiksrechten van toepassing zoals vastgelegd in de Creative Commons licentie. [Naamsvermelding 3.0 Nederland]. Voor de volledige tekst van deze licentie zie <http://www.creativecommons.org/licenses/by/3.0/nl/>

ISBN 978-90-6984-647-7

pdf beschikbaar op www.knaw.nl

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen

Postbus 19121, 1000 GC Amsterdam

T 020 551 0700

F 020 620 4941

knaw@bureau.knaw.nl

www.knaw.nl

INHOUDSOPGAVE

Ten geleide 5

1. Beleid dierexperimenteel onderzoek 7
2. Het proefdieronderzoek van de KNAW 9
3. Toezicht en interne toetsing 15
4. Cijfers 2009 en 2010 19
5. Besteding 3V-fonds 23
6. Onderwijs 25

TEN GELEIDE

In dit verslag wordt een beeld gegeven van het wetenschappelijk onderzoek dat met proefdieren plaatsvindt in drie instituten van de KNAW. Het gaat hierbij vooral om fundamenteel wetenschappelijk onderzoek naar de fysiologische processen die (kunnen) leiden tot het ontstaan van voor de mens ernstige ziekten, zoals darmkanker, of om onderzoek naar (het beïnvloeden van) de mogelijkheden die het lichaam heeft om te herstellen na ernstig letsel, zoals een dwarslaesie. Ook vindt onderzoek plaats naar de gevolgen voor dieren en mensen van de versturende werking van de mens op het ecosysteem van de aarde.

Dieren worden ingezet om resultaten te behalen die voor de mens van belang worden geacht. Hier is altijd sprake van een ethisch spanningsveld, want wat is wel en wat is niet geoorloofd en waarom wel of niet? De KNAW is zich hiervan zeer bewust. Het is duidelijk dat over de antwoorden op deze vragen in de huidige maatschappij geen consensus bestaat.

Met dit verslag wil de KNAW voorzien in de behoefte aan verantwoording en informatie. Jegens de dieren bestaat de plicht om de grootste zorgvuldigheid in acht te nemen en dierproeven achterwege te laten als het ook maar enigszins anders kan. Tegenover de maatschappij bestaat de plicht te laten zien welk onderzoek er plaatsvindt en waarom.

Prof. dr. Theo Mulder
Directeur Instituten

1. BELEID DIEREXPERIMENTEEL ONDERZOEK

De Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) is niet alleen een adviesorgaan van de regering en een genootschap van geleerden maar heeft ook zeventien instituten voor wetenschappelijk onderzoek. In drie instituten worden in het kader van biologisch en medisch wetenschappelijk onderzoek dierproeven uitgevoerd. Dat zijn het Hubrecht Instituut voor Ontwikkelingsbiologie en Stamcelonderzoek, het Nederlands Instituut voor Neurowetenschappen (NIN) en het Nederlands Instituut voor Ecologie (NIOO). Het bestuur van de KNAW is vergunninghouder voor dit onderzoek, de directeur Instituten treedt op als gemandateerd vergunninghouder.

Het belang van dierexperimenteel onderzoek

De dierproeven in de drie onderzoeksinstituten zijn gericht op het verkrijgen van kennis over mechanismen die ten grondslag liggen aan basale biologische processen. Het biologisch onderzoek van het NIOO is gericht op het beter begrijpen van dieren in hun natuurlijke omgeving, hoe ze zich kunnen aanpassen aan een veranderende wereld, maar ook wat voor fysiologische mechanismen ten grondslag liggen aan hun gedrag. Het biomedisch onderzoek van het Hubrecht Instituut en het NIN is gericht op processen in ons lichaam, hoe deze kunnen haperen en kunnen leiden tot ziekte en dood. Ook wordt onderzoek gedaan naar behandelmethoden.

Proefdieren zijn voor het biomedisch onderzoek van het Hubrecht Instituut en het NIN nog steeds essentieel om antwoord te kunnen krijgen op belangrijke onderzoeksvragen. Voor het biologisch onderzoek van het NIOO zijn proefdieren essentieel omdat het de dieren zelf zijn waar het onderzoek op gericht is. Het is belangrijk te beseffen dat veel van onze kennis over de natuur, gezondheid en ziekte voor een zeer groot deel te danken is aan het gebruik van proefdieren.

In 2010 heeft de KNAW een officieel standpunt over het onderzoek met proefdieren en het belang daarvan gepubliceerd (zie: www.knaw.nl, tabblad thematisch).

Het belang van dierexperimenteel onderzoek leidt er niet automatisch toe dat de KNAW zonder meer *voor* het uitvoeren van dierproeven is. Zij stelt zich op het standpunt dat alles in het werk moet worden gesteld om het aantal proefdieren te verminderen en het ongerief voor proefdieren tot een minimum te beperken. In de Wet op de dierproeven (Wod) zijn gedetailleerde voorschriften vastgelegd waaraan dierexperimenteel onderzoek in Nederland moet voldoen. Gezien het belang dat de KNAW hecht aan dierenwelzijn heeft zij in aanvulling op het wettelijke kader eigen beleidskaders geformuleerd.

Alternatieven: de drie V's

In het proefdierbeleid van de KNAW staan de drie V's centraal: vermindering, vervanging en verfijning. Onder vermindering wordt verstaan de afname van het aantal proefdieren

dat betrokken is bij experimenten, bijvoorbeeld door het gebruik van verbeterde onderzoeksmethoden. Vervanging duidt op het zoeken naar alternatieve methoden voor dierexperimenten. Verfijning is gericht op het terugdringen van ongerief voor proefdieren, bijvoorbeeld door betere verzorging en huisvesting. De KNAW stimuleert vermindering, vervanging en verfijning binnen haar instituten. Hiervoor is een stimuleringsfonds opgericht met een jaarlijks budget van € 100.000. Met deze middelen worden maatregelen gefinancierd die in lijn zijn met de drie V's.

Zorgvuldige selectie van diersoorten

Bij het onderzoek in de drie instituten wordt zorgvuldig nagegaan of proefdieren nodig zijn voor het beantwoorden van wetenschappelijke vragen en zo ja, welke diersoort noodzakelijk is. Uitgangspunt is dat een proef niet met een gewervelde diersoort mag worden uitgevoerd wanneer het beoogde doel ook bereikt kan worden met een ongewervelde diersoort.

Openheid

In het proefdierbeleid van de KNAW staat ook openheid centraal. In het streven naar grotere openheid over dierproeven heeft de KNAW, samen met de Vereniging van Universiteiten (VSNU) en de Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU), de Code Openbaarheid Dierproeven ontwikkeld. Met het ondertekenen van deze code verplichten instellingen zich tot het afleggen van maatschappelijke verantwoording over het gebruik van proefdieren. Een proefdierkundig verslag is een onderdeel hiervan, naast het geven van onderwijs en voorlichting.

Openheid brengt echter ook een dilemma met zich mee. Openheid mag niet ten koste gaan van de veiligheid van onderzoekers en de vertrouwelijke aard van sommige onderzoeksgegevens. Daarom wordt steeds gezocht naar een balans tussen openheid over dierexperimenten, vertrouwelijkheid van wetenschappelijke gegevens en persoonlijke veiligheid.

2. HET PROEFDIERONDERZOEK VAN DE KNAW

Drie KNAW-instituten verrichten onderzoek waarin proefdieren worden gebruikt. In dit hoofdstuk wordt een beeld geschetst van het dierexperimenteel onderzoek. Daarnaast worden ter illustratie specifieke onderzoekslijnen uitgelicht.

Hubrecht Instituut voor Ontwikkelingsbiologie en Stamcelonderzoek

De overkoepelende onderzoeksthema's van het Hubrecht Instituut zijn ontwikkelingsbiologie en stamcellen. Binnen de ontwikkelingsbiologie staat de vraag centraal hoe organismen zich ontwikkelen van een bevruchte eicel tot een volwassen individu. De biologische processen die door het Hubrecht Instituut onderzocht worden, zijn de embryonale ontwikkeling van organismen en de groei en instandhouding van organen. Het onderzoek naar stamcellen is hier nauw mee verbonden. Zowel embryonale als foetale en volwassen stamcellen worden gebruikt in het onderzoek naar ziekten als kanker.

Met het onderzoek van het Hubrecht Instituut wordt niet alleen meer kennis verkregen over processen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van organismen, maar ook over behandelmogelijkheden wanneer deze processen ontsporen of wanneer organen beschadigd raken. Stamcelonderzoek is van belang om na te gaan hoe stamcellen zich kunnen ontwikkelen tot specifieke weefsels zoals hart-, hersen-, darm- of alvleesklierweefsel. Voordat stamcellen in therapieën toegepast kunnen worden is het echter van belang te weten hoe de groei (proliferatie) en specialisatie (differentiatie) van deze cellen onder controle kan worden gehouden.

Voor onderzoek dat niet in mensen kan worden uitgevoerd zijn proefdieren nodig. In het Hubrecht Instituut gaat het om muizen, ratten, zebrafissen en rond- en platwormen. Muizen zijn belangrijk voor onderzoek, omdat hun genetische eigenschappen relatief goed kunnen worden veranderd. Met genetisch gemodificeerde muizen wordt onderzocht welke mechanismen darmen bij volwassen dieren in stand houden en welke defecten hierin optreden bij het ontstaan van darmkanker. Muizen worden ook gebruikt bij onderzoek naar genregulatie bij erfelijke vormen van bloedarmoede, onderzoek naar het uitzaaien van tumorcellen in het lichaam, onderzoek naar de rol van specifieke stamcelpopulaties tijdens de ontwikkeling van embryo's en onderzoek naar genezing van diabetes door middel van injecties met alvleesklierstamcellen. Ratten worden in het instituut gebruikt voor het maken van zogenaamde genetische 'knock-outs'.¹

Zebrafissen spelen een rol in onderzoek naar de ontwikkeling van botten, bloedvaten en het hart en daarmee verwante ziekten. Deze vissen zijn voor onderzoek belangrijk omdat de embryo's gemakkelijk toegankelijk zijn: er vindt van nature uitwendige bevruchting plaats.

¹ Het selectief uitschakelen van genen en daarmee van lichaamsfuncties.

Het Hubrecht Instituut werkt ook met nematoden (platwormen en rondwormen) en twee soorten insecten. Deze ongewervelde dieren zijn geen proefdieren in de zin van de Wet op de dierproeven, maar hun aanwezigheid op het instituut is wel illustratief voor de benadering waarbij voor onderzoek zo mogelijk ongewervelde dieren worden ingezet.

Hans Clevers over stamcellen en darmen

De ontwikkeling en vervolgens de instandhouding van een complex volwassen organisme dat ontstaat uit een enkele bevruchte eicel is een fascinerend proces waarbij stamcellen een centrale rol spelen. In zoogdieren bestaan twee soorten stamcellen, n.l. de embryonale stamcellen en de adulte stamcellen.

De embryonale stamcellen kunnen in een zich ontwikkelend embryo differentiëren tot alle gespecialiseerde embryonale weefsels. Humane embryonale stamcellen, die worden geïsoleerd uit zeer jonge embryo's, waren daarom ook de grote belofte voor de regeneratieve geneeskunde, maar ze zijn ethisch omstreden en moeilijk te verkrijgen. De adulte stamcellen fungeren bij volwassen zoogdieren binnen een bepaald orgaan als bron voor het vervangen van cellen na beschadiging of als aanvulling van zich snel delende organen (bijv. bloed, huid en darmen). Ons onderzoek richt zich met name op de darmen.

De darm is een belangrijk onderdeel van het spijsverteringsstelsel. De darmen hebben verschillende functies: vertering, absorptie, bescherming en uitscheiding. Om deze verschillende functies goed te kunnen vervullen bevatten de darmen verschillende soorten cellen die allemaal iedere week volledig worden vervangen. Met andere woorden: iedere week wordt er een compleet nieuwe darm gevormd, wat overeenkomt met de aanmaak van maar liefst 100.000.000.000 nieuwe darmcellen per dag. Ze ontstaan uit de adulte darmstamcel waarna ze zich vermeerderen en specialiseren. We hebben ons onder andere gericht op de identificatie van deze adulte darmstamcel – en met succes: we hebben deze stamcel weten te identificeren en ook ontdekt dat het de cel is die na de inductie van bepaalde DNA-mutaties ontspoot, wat leidt tot onder andere darm-, maag- en huidkanker. Mede op basis van onderzoek met genetisch gemodificeerde muizen hebben we een uniek in vitro kweekstelsel voor darmen kunnen opzetten. We zijn in staat om, na toevoeging van een mix van bepaalde groeifactoren, vanuit één adulte darmstamcel complete nieuwe darmen te kweken. We kunnen dit nu ook voor andere organen, namelijk de alvleesklier, nier, lever, huid en maag. We zijn inmiddels ook in staat om uit humaan materiaal deze weefsels te kweken. Deze gekweekte cellen kunnen in de nabije toekomst gebruikt worden voor de behandeling van patiënten (bijv. patiënten met diabetes). Voor het uittesten van nieuwe medicijnen en als een alternatieve methode voor het creëren van genetisch-gemodificeerde muizen ter verkrijging van genetisch-gemodificeerde weefsels.

Nederlands Instituut voor Ecologie

Organismen, zowel planten als dieren, passen zich aan hun veranderende omgeving aan, maar kunnen ook zelf hun omgeving beïnvloeden. Deze permanente interactie tussen organisme en omgeving staat centraal in het onderzoek van het NIOO. Specifiek gaat het om het aanpassingsvermogen van individuele planten en dieren, variatie binnen populaties, interactie tussen soorten en interactie tussen levende en niet-levende delen van een ecosysteem. Het onderzoek wordt gekenmerkt door fundamentele vergelijkende studies en langdurige observaties van geselecteerde populaties en ecosystemen. Het instituut beschikt bijvoorbeeld over langjarige databestanden met soorten dieren in de Zeeuwse bodem en met legdata van nestkastbewonende broedvogels. Het zijn data die tot meer dan vijftig jaar teruggaan. Met deze informatie kunnen bijvoorbeeld de effecten van klimaatverandering onderzocht worden.

Omdat dieren worden bestudeerd in relatie tot hun natuurlijke omgeving wordt veel van het onderzoek in wilde populaties gedaan en worden handelingen verricht die zo min mogelijk effect op de dieren hebben. Dit betekent in de praktijk dat het veelal gaat om niet-invasieve handelingen zoals gedragstesten en (tijdelijke) verplaatsingen van dieren. Verder gaat het vooral om het afnemen van beperkte hoeveelheden bloed voor genetisch en fysiologisch onderzoek. Voor ecologisch onderzoek is het belangrijk dieren te onderzoeken die hun volledige scala aan natuurlijke gedragingen vertonen. Het gebruik van genetisch gemodificeerde dieren is dan ook niet aan de orde.

Het NIOO doet sinds 1955 onderzoek naar koolmezen die in nestkasten broeden. Elk jaar worden in het voorjaar de nestkasten gecontroleerd op nestbouw en eieren, worden de jongen geïnged en de ouders op het nest gevangen voor identificatie. Op deze manier wordt een 'burgerlijke stand' bijgehouden die onmisbaar is voor onder meer onderzoek naar de effecten van klimaatverandering.

Bij het onderzoek met dieren in het wild worden soms vogels uitgerust met een zender, bijvoorbeeld koolmezen (met een licht zendertje) en kleine zwanen (met een GPS-datalogger). Hiermee kan de verplaatsing van de dieren in ruimte en tijd worden geregistreerd. Ook bieden dergelijke loggers de mogelijkheid om te kijken of de dieren die vroeg vertrekken naar hun broedgebied meer jongen krijgen dan de dieren die later vertrekken. Van deze dieren worden ook monsters verzameld, zoals bloed en veren voor informatie over dieetkeuze en habitat.

Om te onderzoeken hoe dieren in het wild functioneren is het soms noodzakelijk ze onder gecontroleerde condities te bestuderen. In de volières van het instituut wordt met koolmezen gefokt om zo twee selectielijnen te onderscheiden die verschillen in persoonlijkheid. Net als bij mensen kunnen bij vogels verschillende persoonlijkheden worden onderscheiden. Ook wordt in de volières onderzoek verricht naar de ecologische consequenties van klimaatverandering en dan met name naar de snelheid van de micro-evolutie van de legdatum bij koolmezen. Omdat in de volières de temperatuur en de daglengte binnen de in de natuur voorkomende fysiologische grenzen gevarieerd kunnen worden, kan worden uitgezocht of vogels wat betreft hun seizoenstiming direct of indirect (bijvoorbeeld via voedsel) beïnvloed worden door temperatuur. Wanneer deze dieren aan het einde van het experiment niet meer voor wetenschappelijke doeleinden nodig zijn, worden ze na een gewinningstraject weer vrijgelaten. Na hun periode in gevangenschap kunnen ze zich goed in het wild redden.

Kees van Oers over persoonlijkheid bij vogels

In het NIOO wordt onderzoek gedaan naar de oorzaken en gevolgen van persoonlijkheidsverschillen bij vogels. Net als bij mensen vinden we bij dieren individuele verschillen in gedrag. Deze verschillen hebben verregaande gevolgen voor andere (gedrags)eigenschappen en uiteindelijk ook voor het succes dat een individu of soort heeft met het overleven in een veranderende omgeving. Om te weten te komen hoe organismen, inclusief de mens, reageren op de huidige veranderingen in onze leefomgeving is het noodzakelijk een ecologisch model te hebben. Voor ons onderzoek is dat de koolmees.

Om te weten te komen hoe dieren reageren op veranderingen in hun natuurlijke omgeving en wat de consequenties daarvan zijn, is het belangrijk ze te volgen in hun eigen leefomgeving. Bij de koolmees zijn dit nestkastpopulaties die we al gedurende vele jaren bestuderen. Om de persoonlijkheid van een individu te bepalen, moeten we de dieren kort uit hun natuurlijke

omgeving halen. Dit doen we door vogels te vangen en voor een nacht over te brengen naar de volièrtes van het instituut. Daar worden ze de volgende dag vrijgelaten in een kamer waarin zich een aantal kunstbomen bevinden. Een koolmees gaat meteen op zoek naar voedsel. De snelheid en manier waarmee ze deze ruimte ontdekken is een goede maat voor de persoonlijkheid van het individu. De test duurt ongeveer tien minuten. Daarna nemen we bloed af voor genetisch en fysiologisch onderzoek, worden de dieren gewogen en gemeten en brengen we ze terug naar hun eigen territorium. Zo zijn we in staat de persoonlijkheid van bijna alle individuen van onze populatie te kwalificeren.

Het is onmogelijk om een individuele koolmees gedurende zijn hele leven op elk moment buiten te volgen. Daarom doen we ook onderzoek in gevangenschap. Hiervoor halen we jonge koolmezen uit hun nest en voeden we ze met de hand op. We kweken ook koolmezen in volièrtes. Door paartjes te vormen van extreme fenotypes en dit enkele generaties te herhalen kunnen we selectielijnen maken om de gevonden gedragsverschillen uit te vergroten. Deze selectielijnen zijn een krachtig hulpmiddel om de verschillen die tussen individuen bestaan op te splitsen in invloeden van de omgeving en erfelijke oorzaken. Zo doen we onderzoek naar de relatie tussen persoonlijkheid en cognitief vermogen. Is het zo dat dieren die brutaal en agressief zijn ook slimmer zijn dan de rest? Op het eerste gezicht lijkt er een groot verschil in het leervermogen tussen de verschillende types te bestaan. Het blijkt echter dat dieren met verschillende persoonlijkheden niet beter, maar anders leren. Het uiteindelijke doel wordt door elk individu gehaald, maar ieder doet dat op zijn eigen manier. Het bestuderen van persoonlijkheidskenmerken bij koolmezen heeft ook nut voor de maatschappij. Onderzoek bij mensen geeft weliswaar inzicht in de processen die ten grondslag liggen aan de individuele verschillen, maar het is onmogelijk vragen te beantwoorden die gerelateerd zijn aan het behoud van deze variatie. Diermodellen blijken beter inzicht te geven in de mechanismen die persoonlijkheid verklaren. In samenwerking met psychologen en psychiaters wordt de kennis die we met de koolmees vergaren direct omgezet in vragen over de humane persoonlijkheid. Uiteindelijk bestuderen psychologen, psychiaters en ecologen hetzelfde fenomeen en kunnen we veel van elkaar leren. We hebben ook hetzelfde doel: te weten te komen hoe mens en dier omgaan met een steeds veranderende wereld.

Nederlands Instituut voor Neurowetenschappen

Het Nederlands Instituut voor Neurowetenschappen (NIN) doet onderzoek naar hersenmechanismen en ziekten die deze mechanismen verstoren. De vergaarde kennis helpt op korte of middellange termijn bij het opsporen en bestrijden van hersenaandoeningen. Het aantal mensen in Nederland en in Europa dat leidt aan hersenaandoeningen is groot, en neemt door vergrijzing verder toe. De kosten van de gevolgen van hersenziekten lopen binnen Europa op tot bijna € 800 miljard per jaar. Bovendien gaan hersenziekten gepaard met veel menselijk leed.

Een aantal belangrijke en veel voorkomende hersenziekten en hun oorzaken worden onderzocht in het NIN, onder andere door middel van proefdieronderzoek. Ook wordt onderzoek gedaan naar hersenprocessen bij gezonde dieren. Eerst moet immers bekend zijn hoe een orgaan werkt voordat ziekten begrepen en behandeld kunnen worden. De gevolgen van een dwarslaesie en andere zenuwtrauma's en de behandeling daarvan worden bijvoorbeeld onderzocht bij ratten. Ook multiple sclerose, Parkinson en Alzheimer zijn ziektes die leiden tot ernstige hersenschade. Met behulp van muizen en ratten wordt onderzocht hoe deze ziekten ontstaan en hoe ze kunnen worden behandeld. Andere ziekten die worden bestudeerd tasten de kleine hersenen aan, hetgeen leidt tot bewegingsstoornissen. NIN-onderzoekers willen weten hoe de kleine hersenen werken, hoe hun structuur is aangedaan bij ziekte en hoe de stoornissen kunnen

worden opgeheven. Om deze reden wordt de activiteit van zenuwcellen gemeten, onder meer in ratten, en wordt onderzocht welke eiwitten een rol spelen bij het normaal functioneren van deze zenuwcellen en hun plasticiteit. Ook de aansturing van de hormonale systemen door de hersenen wordt onderzocht in ratten.

In het NIN wordt ook onderzoek gedaan naar visuele systemen. Onderzocht wordt hoe ons netvlies informatie verwerkt en hoe deze verwerking ontspoord bij oogaandoeningen die leiden tot blindheid, zoals bij progressieve vormen van *retinitis pigmentosa*. Onderzoekers van het NIN willen begrijpen hoe deze ziekten, die veelal een grote erfelijke component hebben, ontstaan uit afwijkingen in het DNA en hoe deze DNA-afwijkingen leiden tot schade aan het netvlies. Oogaandoeningen worden onder meer onderzocht in transgene muizen met een vergelijkbare erfelijke afwijking. Het uiteindelijke doel is de achteruitgang van het zien bij patiënten met deze aandoeningen te voorkomen. Ook worden zebrafissen, muizen en ratten gebruikt om te kunnen begrijpen hoe het licht dat het oog binnenkomt wordt omgezet in signalen die naar de hersenen worden getransporteerd en of er mogelijkheden zijn (prothesen of behandelingen) die dit signaaltransport kunnen herstellen bij blinde patiënten. Eenmaal in de hersenen aangekomen dringen de visuele beelden door in het bewustzijn. De vraag is hoe deze informatie wordt verwerkt in de visuele hersenschors. Ook worden denkprocessen onderzocht, bijvoorbeeld wat er gebeurt als we onze aandacht ergens op richten en hoe beslissingen worden genomen. Gezien de complexiteit van de vraagstelling wordt dit gedragsonderzoek verricht met een klein aantal resusapen. Informatie over hoe aandachtprocessen de verwerking van visuele informatie beïnvloeden is van belang, omdat bij veel ziekten aandachtsprocessen verstoord zijn, bijvoorbeeld bij de ziekte van Alzheimer en bij ADHD.

Veel patiënten met de ziekte van Parkinson, maar ook sommige psychiatrische patiënten, worden tegenwoordig behandeld met Deep Brain Stimulation, een techniek waarbij een pacemaker wordt gebruikt om de activiteit van een specifieke hersenstructuur te verlagen of verhogen. Proefdieronderzoek verschaft inzicht in het precieze werkingsmechanisme van Deep Brain Stimulation en helpt om nieuwe plaatsen in de hersenen voor behandeling met deze techniek te ontdekken.

Joost Verhaagen over zenuwschade en herstelprocessen

De oorzaak van zenuwschade is vaak een ongeluk, maar schade kan ook ontstaan door een tumor of een bloeding. Veel van deze schade herstelt niet. Bovendien bestaat er een groot verschil tussen herstel van het perifere deel van het zenuwstelsel en van het centrale deel. De vraag is waar deze verschillen door ontstaan en of het mogelijk is om van herstelprocessen in perifere delen van het zenuwstelsel te leren hoe therapieën voor herstel van het centrale zenuwstelsel ontwikkeld kunnen worden. Omdat het onmogelijk is direct onderzoek te doen in de hersenen of het ruggenmerg van patiënten zijn dieren nodig. Om te onderzoeken welke veranderingen er optreden in zenuw- en gliacellen van het littekenweefsel bij beschadiging van zenuwen worden er laesies gemaakt in het ruggenmerg of in de perifere zenuw van de rat. Vervolgens worden technieken gebruikt die het mogelijk maken een totaalbeeld te krijgen van alle moleculaire veranderingen die in het weefsel optreden. Moleculen die hierbij meer of minder tot expressie komen zouden aanknopingspunten kunnen bieden voor therapieën.

Er worden in dit onderzoek ook cellen uit proefdieren gebruikt die vervolgens in kweek gebracht worden. Dit geldt bijvoorbeeld voor de cellen die een positief effect op het herstel van zenuwbanen hebben. Via celkweken zoeken we naar een antwoord op de vraag welke mechanismen ten

grondslag liggen aan het stimulerende effect van deze cellen. Op deze manier zijn verschillende eiwitten ontdekt die de uitgroei van zenuwvezels stimuleren. Om met zekerheid te kunnen zeggen dat deze moleculen inderdaad belangrijk zijn is een dierexperiment nodig waarin het ontdekte eiwit tot overexpressie wordt gebracht en waarin vervolgens wordt getest of bijvoorbeeld na zenuwletsel het loopgedrag van het dier verbetert. Omdat het onderzoek er uiteindelijk om gaat behandelmethode te vinden voor de patiënt met een zenuwbeschadiging proberen we in ons proefdieronderzoek technieken te ontwikkelen die toepasbaar zijn in mensen. Zo brengen we de nieuw ontdekte eiwitten in proefdieren tot expressie met virale vectorsystemen waarvan al bewezen is dat ze bij de mens veilig zijn. Het onderzoek naar perifere zenuwbeschade in proefdieren is ondertussen vrij ver gevorderd zodat we op basis daarvan nu ook onderzoek doen met menselijk zenuwweefsel dat afkomstig is van de Nederlandse Hersenbank. Het is dankzij het proefdieronderzoek dat we nieuwe inzichten hebben gekregen in zenuwbeschade en herstelprocessen. Dit zal uiteindelijk moeten leiden tot (nieuwe) therapieën.

3. TOEZICHT EN INTERNE TOETSING

Toetsing

De KNAW heeft sinds 1990 een Dierexperimentencommissie (DEC). De DEC is ingesteld door de vergunninghouder en erkend door het ministerie van VWS. De DEC is belast met de wettelijk voorgeschreven ethische toetsing van dierproeven. Dit betekent dat de DEC aan de hand van de regelgeving zoals beschreven in de Wet op de Dierproeven (Wod) toetst of de aantasting van de intrinsieke waarde van het proefdier en het ongerief dat het proefdier tijdens een experiment zal ondervinden opweegt tegen het wetenschappelijk en maatschappelijk belang van het onderzoek. Een belangrijke bepaling van de Wod is dat dierproeven verboden zijn wanneer hetzelfde doel kan worden bereikt met een alternatief waarbij geen, minder of 'lagere' dieren nodig zijn of waarbij minder ongerief voor de dieren wordt verwacht. De DEC doet jaarlijks verslag van haar werkzaamheden. Dat jaarverslag wordt naar de Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit (NVWA) gezonden, die vervolgens in haar eigen jaaroverzicht 'Zo doende' rapporteert over dierproeven en proefdieren en de werkzaamheden van alle DEC's in Nederland.

Intern toezicht

De KNAW heeft twee proefdierdeskundigen (ex art. 14 Wod) in dienst. Zij houden toezicht op het dierenwelzijn, controleren of dierproeven worden uitgevoerd zoals beschreven in de onderzoeksplannen en of wordt voldaan aan de voorwaarden die de DEC aan de uitvoering van de onderzoeken heeft gesteld. De KNAW-proefdierdeskundigen hebben de bevoegdheid een onderzoek te stoppen wanneer dit niet volgens de regels en voorwaarden van het DEC-advies wordt uitgevoerd. Zij bezoeken zeer frequent de locaties waar de proefdieren zijn gehuisvest en waar de dierproeven worden uitgevoerd. Ook voeren ze de administratie met betrekking tot de dierproeven en adviseren zij de DEC. Er vindt maandelijks overleg met de gemandateerd vergunninghouder plaats.

Procedure en werkwijze binnen de KNAW

Voordat een onderzoeksplan door de DEC in behandeling wordt genomen dient aan een aantal voorwaarden te zijn voldaan. Ten eerste moet het plan opgesteld zijn door een bevoegde artikel-9-functionaris (ex artikel 9 van de Wod) en getoetst aan wettelijke kaders door een artikel-14-functionaris (proefdierkundige). Ten tweede moet duidelijk omschreven zijn – conform wettelijke voorschriften – wat het doel is van de voorgenomen dierproef, wat het wetenschappelijke en maatschappelijke belang is en hoe de proef wordt uitgevoerd. Ten derde moet de keuze voor de diersoort worden gemotiveerd.

Wanneer aan deze voorwaarden is voldaan wordt het onderzoeksplan door de DEC in behandeling genomen. Het oordeel van de DEC wordt vervolgens vastgelegd in een advies aan de vergunninghouder. Alleen positieve adviezen kunnen leiden tot uitvoering van experimenten. Na

instemming van de vergunninghouder wordt dit besluit en het advies van de DEC door het DEC-secretariaat naar de betrokken onderzoekers gezonden. Aanpassing van een reeds goedgekeurd onderzoeksplan geschiedt in de vorm van een wijzigingsvoorstel van de onderzoeker dat opnieuw de DEC-adviesprocedure doorloopt.

De DEC heeft de mogelijkheid om bepaalde onderzoeksplannen af te handelen in een kleine commissie. Hierbij gaat het om experimenten met gering ongerief voor dieren (met uitzondering van primaten), experimenten die bij herhaling volgens een vast protocol worden uitgevoerd en die eerder door een voltallige DEC zijn beoordeeld, of wijzigingsvoorstellen waarbij geen veranderingen optreden in de vraagstelling of het ongerief.

Om de bij de DEC aangemelde onderzoeksplannen in de bredere context van de onderzoeksgroep te kunnen plaatsen nodigt de DEC regelmatig onderzoeksleders van de verschillende instituten uit om hun onderzoek tijdens een DEC-vergadering toe te lichten. Daarnaast vergadert de DEC afwisselend bij de drie verschillende instituten om voeling te houden met de instituten.

Binnen de KNAW valt een deel van het dierexperimenteel onderzoek buiten de kaders van de Wet op de dierproeven. Voor dit onderzoek is formeel gezien geen advies van de DEC nodig. Voorbeelden hiervan zijn het maken van transgene zebravissen en het vervolgens doen van onderzoek aan de embryo's van deze dieren (zolang bij de ouders geen sprake is van een aangetast fenotype), en experimenten met dieren in het wild waarbij geen sprake is van invasieve handelingen. Dit onderzoek wordt wel besproken met de proefdierdeskundigen. Wanneer er sprake is van twijfel of het onderzoek binnen de kaders van de Wod valt, wordt het onderzoeksplan aan de DEC voorgelegd.

Samenstelling van de DEC

De DEC komt maandelijks voltallig bijeen. De leden worden benoemd door de vergunninghouder en zijn in ieder geval deskundig op één van de gebieden zoals beschreven in de Wod: dierproeven, alternatieven, ethiek of proefdieren en hun bescherming.

De DEC van de KNAW heeft de volgende samenstelling:

- voorzitter, geen arbeidsrelatie met KNAW, geen betrokkenheid bij dierproeven
- twee vertegenwoordigers van het NIN; deskundig op het gebied van dierproeven
- vertegenwoordiger NIOO; deskundig op het gebied van dierproeven en alternatieven
- vertegenwoordiger Hubrecht Instituut; deskundig op het gebied van dierproeven
- externe deskundige op het gebied van ethiek, geen arbeidsrelatie met KNAW, geen betrokkenheid bij dierproeven
- externe deskundige op het gebied van proefdieren en hun bescherming, alternatieven en ethiek, geen arbeidsrelatie met KNAW, geen betrokkenheid bij dierproeven
- vertegenwoordiger van het NIN; deskundig op het gebied van proefdieren en hun bescherming

De DEC wordt ondersteund door de proefdierdeskundigen van de KNAW en een ambtelijk secretaris.

De commissieleden van de instituten zijn bij de totstandkoming van adviezen over onderzoeksplannen uit het eigen instituut slechts als adviseur betrokken. Zij dienen zich van stemming te onthouden.

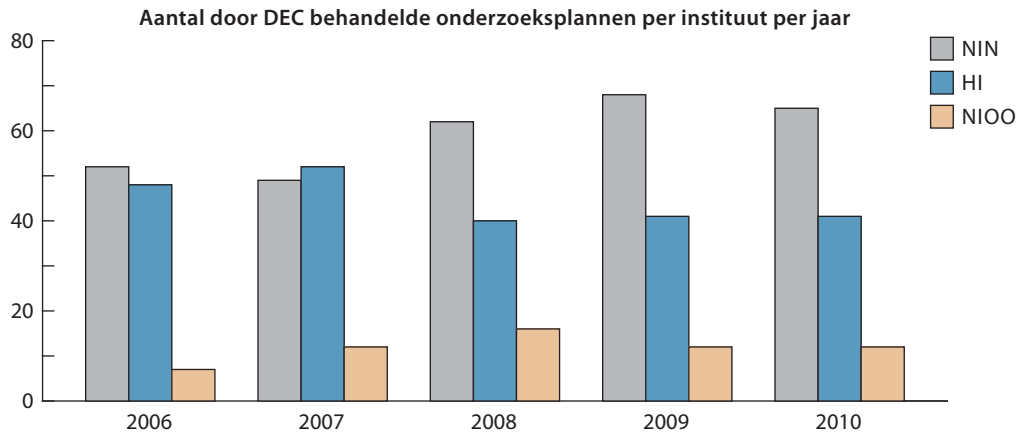
De zebravis in het onderzoek

Vergeleken met meer gangbare proefdieren zoals de muis en de rat heeft de zebravis (*Danio rerio*) een aantal belangrijke voordelen. De zebravis is een gewerveld dier dat oorspronkelijk onder meer voorkomt in de natte rijstvelden van India. De vissen zijn goed te huisvesten in een laboratorium en planten zich voort door middel van uitwendige bevruchting. Deze uitwendige bevruchting maakt het mogelijk te beschikken over voldoende embryo's zonder dat hiervoor volwassen dieren gedood hoeven te worden. Daarnaast zijn zebravisembryo's volledig doorzichtig, waardoor de ontwikkeling van zowel uitwendige als inwendige organen kan worden gevolgd zonder een dier te moeten opereren. Profiterend van de vergelijkbare fysiologie tussen mens en vis wordt binnen het Hubrecht Instituut de zebravis ingezet voor verschillende biomedische onderzoeksdoelen. Voorbeelden hiervan zijn: (i) embryonale ontwikkeling van het cardiovasculaire systeem, van belang voor het begrijpen van aangeboren afwijkingen en tumorgroei; (ii) stamcellen van de darm en voortplantingsorganen, van belang voor het ontwikkelen van regeneratieve therapieën; (iii) vorming en afbraak van bot, van belang voor het begrijpen en behandelen van osteoporose en andere ziekten; (iv) tumorvorming en uitzaaiing, van belang voor het begrijpen en behandelen van kanker. Binnen het NIN wordt de zebravis en daarnaast ook de goudvis gebruikt voor onderzoek naar de ontwikkeling van het zicht en stoornissen daarin zoals blindheid en de behandeling daarvan.

4. CIJFERS 2009 EN 2010

Beoordeling onderzoeksplannen

Onderstaande figuur laat het aantal onderzoeksplannen zien dat door de DEC is beoordeeld in de laatste jaren. De schommeling in het aantal onderzoeksplannen heeft te maken met variaties in het aantal onderzoekers en met keuzes voor het type onderzoeksvragen.

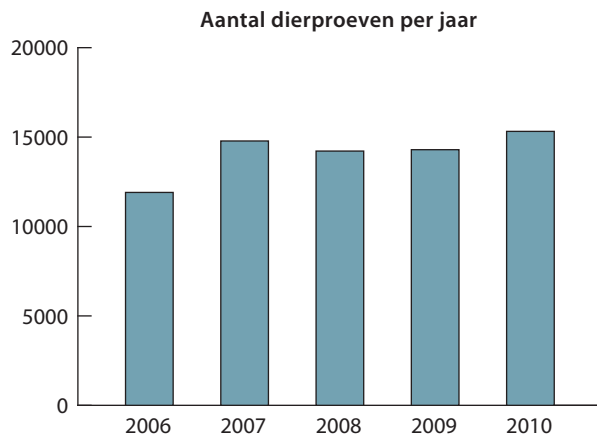


Figuur 1

In 2009 werden 104 onderzoeksplannen van een positief advies voorzien, 14 werden er bij de bespreking door de DEC in eerste instantie aangehouden. Uiteindelijk kregen 13 plannen een positief advies en werd één onderzoeksplan ingetrokken. In 2010 werden 101 onderzoeksplannen na eerste bespreking in de DEC van een positief advies voorzien en werden er 14 aangehouden. Deze laatste werden na verdere bespreking alsnog van een positief advies voorzien. Drie plannen werden ingetrokken.

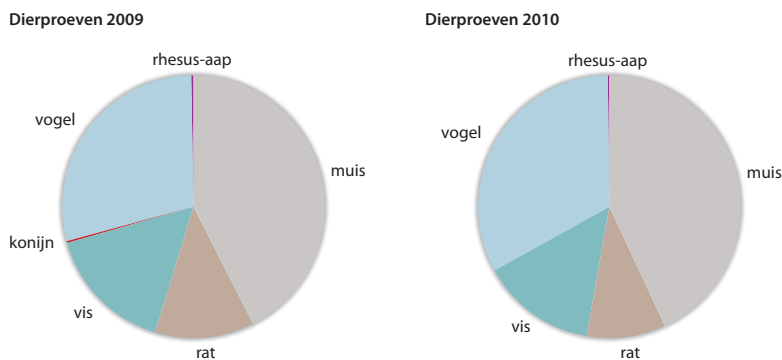
Dierproeven en proefdieren

Het aantal dierproeven dat bij de KNAW wordt verricht fluctueert rond de 15.000 per jaar.



Figuur 2

Uitsplitsing naar diersoort laat voor 2009 en 2010 onderstaande verdeling zien (inclusief genetisch gemodificeerde dieren en dieren uit het wild).

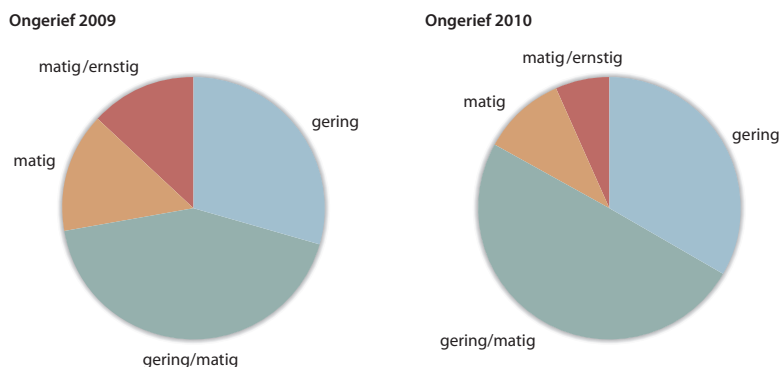


Figuur 3

Mate van ongerief

De KNAW hanteert conform de geldende wetgeving strenge richtlijnen voor het toepassen van anesthesie en analgesie (pijnbestrijding). Van onderzoekers wordt gevraagd om het ongerief zo veel mogelijk te beperken en zo kort mogelijk te laten duren. Voor de definitie van ongerief en de beoordelingscriteria voor de mate van ongerief wordt verwezen naar de toelichting bij de registratie proefdieren en dierproeven 2011 (zie: website NVWA).

In 2009 en 2010 hebben geen experimenten plaatsgevonden in de categorie ernstig/zeer ernstig ongerief. Het grootste deel van de dierproeven bevindt zich in beide jaren in de categorie gering en gering/matig.



Figuur 4

Extern toezicht door NVWA

Het externe toezicht ligt in handen van de inspecteurs van de NVWA. In 2009 werden één onaangekondigde en zes aangekondigde inspecties uitgevoerd bij de drie instituten, in 2010 zijn drie onaangekondigde en één aangekondigde inspecties uitgevoerd. De NVWA inspecteerde op het Besluit biotechnologie, regelingen voor huisvesting, de verzorging van proefdieren en onderzoekshandelingen conform onderzoeksplannen. Het algemene oordeel van de inspectie werd in de verslagen omschreven als 'voldoende', in één geval was het oordeel 'matig'.

Eén van de bezoeken van de inspectie betrof een DEC-vergadering. In het inspectieverslag werd geconcludeerd dat er sprake was van grote zorgvuldigheid bij de behandeling van onderzoeksplannen. Een sterk punt vond de NVWA het formulier voor de onderzoeksplannen waarin ten behoeve van de beoordeling veel relevante informatie expliciet wordt gevraagd.

Het vogeltrekstation

Het Vogeltrekstation/Centrum voor Vogeltrek en -demografie is een samenwerkingsverband van het NIOO-KNAW en de Ringersvereniging. Het Vogeltrekstation is hét expertisecentrum op het gebied van vogeltrek en vogeldemografie en regelt de dagelijkse gang van zaken rond het vangen en ringen van vogels voor wetenschappelijk onderzoek. Jaarlijks worden er in Nederland door vrijwillige en professionele vogelringers ongeveer 270.000 wilde vogels van een metalen vogelring voorzien, teneinde hun bewegingen en overleving te kunnen vastleggen. De gegevens van deze geringde vogels en de terugmeldingen die vanuit de hele wereld binnenkomen worden beheerd door het Vogeltrekstation. Er zijn zo'n 475 'ringers' actief in Nederland, waarvan het merendeel vrijwilliger is.

Binnen de Wet op de dierproeven (Wod) worden niet-invasieve handelingen aan dieren in het veld niet beschouwd als een dierproef. Het vangen en ringen van wilde vogels valt dan ook buiten de kaders van de Wod. Wel is het nodig een Flora- en faunawetontheffing te hebben. Het Vogeltrekstation kan individuele ringers machtigen vogels te vangen en te ringen onder een zogenaamde 'raamvergunning'. Hoewel het in wettelijke zin dus geen dierproeven zijn, leidt het vangen, dat dikwijls met zogenaamde 'mistnetten' gebeurt, onmiskenbaar tot ongerief bij de vogels. Het bevrijden van de vogels uit de vangmiddelen, het ringen zelf, en het nemen van maten en gewichten dient snel en vakkundig te worden uitgevoerd om dit ongerief te beperken. Het vogeltrekstation besteedt daarom veel aandacht aan opleiding en certificering. Aspiranten dienen eerst stage te lopen als 'assistent-ringer' bij een ervaren ringer die in het bezit van een ringmachtiging is. De lengte van de stage is afhankelijk van het doel. Het ringen van jonge boerenzwaluwen in het nest is relatief eenvoudig en snel te leren, maar goed leren werken met

mistnetten om grote aantallen zangvogels van veel verschillende soorten te vangen vereist een stage die meerdere jaren kan duren. De begeleidend ringer fungeert als mentor en besteedt aan alle aspecten van het vang- en ringwerk aandacht. Naast het veldwerk komen ook administratie, gegevensbeheer en omgaan met risico's voor mens én vogel aan bod. Wanneer de stage voltooid is wordt een praktijkexamen gedaan bij een door Vogeltrekstation aangewezen ringer of ringgroep. Wanneer het examen met goed gevolg is afgelegd kan de aspirant zelfstandig verder met een eigen machtiging. Daarna gaan ringers met regelmaat 'op herhaling' en spijkeren ze hun kennis verder bij tijdens certificeringsdagen waarop praktijk en/of theorie aan bod komen.

Onderzoeksprojecten

Het Vogeltrekstation organiseert grootschalige, gestandaardiseerde ringprojecten waaraan ringers mee kunnen doen. Deze projecten zijn met name gericht op het verzamelen van demografische gegevens van vogels. De gegevens spelen een belangrijke rol in het onderzoek naar de effecten van klimaatverandering. Ringers kunnen ook eigen projecten indienen ter goedkeuring. Als deze passen binnen de doelstellingen en waardevolle gegevens opleveren worden ze gehonoreerd. Regelmatig worden vrijwillige ringers betrokken bij onderzoek van universiteiten en wetenschappelijke instituten. Deze gegevens, én de specifieke kennis die deze mensen bezitten, vormen een belangrijke aanvulling op het professionele onderzoek.

100 jaar vogels ringen

In 2011 was het precies honderd jaar geleden dat de eerste wilde vogel in Nederland van een ring werd voorzien. Vogeltrekstation heeft het jubileumjaar aangegrepen om haar activiteiten breed onder de aandacht te brengen. Sinds 1911 zijn bijna elf miljoen wilde vogels uitgerust met een metalen ring van het Vogeltrekstation. Dat heeft geresulteerd in zo'n 1,4 miljoen *terugmeldingen* uit binnen- en buitenland. Het accent van het ringonderzoek is in die honderd jaar verschoven van het ontdekken van trekroutes en overwinteringsgebieden naar het doen van demografisch onderzoek. Technologische ontwikkelingen op het gebied van 'animal tracking' zorgen momenteel voor een revolutie in het trekvogelonderzoek, en het ringen van vogels is hier als methode minder belangrijk geworden. Het vogeltrekstation wil bij het gebruik van deze nieuwe technieken ook een centrale rol spelen. Dat is nodig om wildgroei te voorkomen en eenduidige regels op te kunnen stellen over welke technieken toelaatbaar zijn en welke niet. Voortschrijdend inzicht is daarbij maatgevend: alleen door goede monitoring van het gedrag en de overleving van vogels die zijn uitgerust met een zender of logger kunnen bevestigingstechnieken worden verbeterd en de mate van ongerief geminimaliseerd.

5. BESTEDING 3V-FONDS

De KNAW besteedt sinds 2008 jaarlijks € 100.000 aan maatregelen gericht op vermindering, vervanging en verfijning in dierexperimenteel onderzoek. Hieronder wordt een overzicht gegeven van enkele maatregelen.

Hubrecht Instituut

In het kader van de ontwikkeling van alternatieven voor het gebruik van proefdieren is vanuit het fonds bijgedragen aan het opzetten van een methode ter vervanging van genetisch gemodificeerde muizen door een *in vitro* kweekstelsel voor organen. Het onderzoek is momenteel nog gaande maar een deel is inmiddels gepubliceerd in het gezaghebbende tijdschrift *Nature Methods*.

Nederlands Instituut voor Ecologie

Met subsidie uit het 3V-fonds is een methode ontwikkeld die het mogelijk maakt om uit de databank van de afdeling Dierecologie van het NIOO op elk moment per onderzoeksplan een overzicht te genereren van de aantallen dieren die onder dit protocol gehouden worden en van alle handelingen die aan deze vogels verricht zijn. Op deze manier kunnen onderzoekers, leidinggevend, proefdierdeskundigen en desgewenst ook de vergunninghouder een beter overzicht krijgen en toezicht houden op het gebruik van de proefdieren.

Nederlands Instituut voor Neurowetenschappen

In het kader van verfijning is er voor het NIN geïnvesteerd in de ontwikkeling van een zogenaamde Erasmusladder. Dit instrument wordt gebruikt voor het detecteren van phenotypes bij muizen, waarbij specifiek wordt gekeken naar de motoriek. Bij ziekten als Parkinson, ALS, MS en ADHD is de motoriek direct aangetast, bij ziekten als Alzheimer en depressie indirect. Omdat onderzoekers voor een kwantitatieve benadering van de motorische afwijkingen bij deze ziektes nog vaak zijn aangewezen op invasieve onderzoeksmethodes is de Erasmusladder ontworpen. Met dit instrument worden invasieve methodes vervangen door een niet-invasieve (observatie) methode, waarbij dus geen operatie nodig is.

6. ONDERWIJS

Voor onderzoekers die in hun onderzoek dierproeven verrichten is het vereist dat zij beschikken over een vooropleiding met minimaal vijfhonderd studie-uren aan biologische basisvakken. Een tweede vereiste is het verplicht volgen van de cursus proefdierkunde, waarmee een onderzoeker de status van artikel-9-functionaris (ex artikel 9 van de Wod) behaalt.

Bij de cursus proefdierkunde ligt in Nederland de nadruk sterk op attitudevorming en niet op het verkrijgen van kennis over specifieke diersoorten. Daarom hebben de bestaande cursussen in Nederland alleen betrekking op de meest gebruikte proefdieren (muizen en ratten) en nauwelijks op andere dieren als vogels, vissen en wilde fauna. Omdat binnen de KNAW ook met andere diersoorten wordt gewerkt is in 2009 een interne cursus ontwikkeld gericht op de omgang met alle diersoorten die in het KNAW-onderzoek worden gebruikt. Nog in hetzelfde jaar werd het erkenningstraject van deze cursus ingezet, wat resulteerde in de Regeling aanwijzing cursus proefdierkunde, gepubliceerd in de Staatscourant. In 2009 werd één cursus georganiseerd en in 2010 volgden vanwege de grote belangstelling twee cursussen.