

# PROEFDIERKUNDIG JAARVERSLAG 2012

Met bijzondere aandacht voor onderzoek naar kanker

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

## Colofon

### **Uitgave 2013**

Universitair Medisch Centrum Utrecht en Universiteit Utrecht  
Huispost D01.343  
Heidelberglaan 100  
3584 CX Utrecht

### **Redactie**

Anita Nieuwenhuis, Universiteit Utrecht  
Sietske Oosterhoff & Jolande van Luipen, UMC Utrecht  
Harry Blom, Proefdierdeskundige  
Jan van der Valk, 3V-Centrum Utrecht Life Sciences

### **Foto's**

Thomas Dobber, UMC Utrecht, Facilitair Bedrijf, cluster Multimedia  
Beeldbanl UU: Pieter van Dorp van Vliet, Maria Salaru, Jan Bitter, Thomas Jankov, Miko Vernooy  
Diverse onderzoekers

### **Contact**

Anita Nieuwenhuis: [a.nieuwenhuis@uu.nl](mailto:a.nieuwenhuis@uu.nl)

### **Foto voorkant**

Rat in U-SPECT scanner

### **Vormgeving en layout**

Zweers Creatives, [www.zweerscreatives.nl](http://www.zweerscreatives.nl)

©2013 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 2012

Met bijzondere aandacht voor onderzoek naar kanker

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



# Inhoudsopgave

Voorwoord . . . . .	2
<b>1. Inleiding . . . . .</b>	<b>5</b>
1.1 Waarom dit jaarverslag. . . . .	5
1.2 Wat doen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht . . . . .	8
1.3 Het stimuleren van alternatieven voor proefdieronderzoek. . . . .	11
<b>2. De cijfers. . . . .</b>	<b>21</b>
2.1 Totaal aantal proefdieren en doel van de proef . . . . .	21
2.2 Overschot aan dieren . . . . .	24
2.3 Diersoorten en aantal dierproeven per diersoort. . . . .	25
2.4 Ongerief per dier. . . . .	28
2.5 Toezicht. . . . .	30
2.6 Het proefdierkundig jaarverslag 2012 . . . . .	31
<b>3. Onderzoek naar kanker . . . . .</b>	<b>33</b>
3.1 Wat is kanker? . . . . .	33
3.2 Voorbeelden van onderzoek naar kanker . . . . .	35
<b>4. Twee dilemma's in proefdieronderzoek . . . . .</b>	<b>57</b>
4.1. Dilemma 1: Beeldvormende technieken in onderzoek: minder dieren nodig maar meer ongerief voor het individu? . . . . .	62
4.2 Dilemma 2: kankermodellen in muizen: zinvol? . . . . .	67
<b>Bijlage 1: Speerpunten onderzoek UMC Utrecht. . . . .</b>	<b>71</b>
<b>Bijlage 2: Focusgebieden onderzoek Universiteit Utrecht . . . . .</b>	<b>75</b>
<b>Bijlage 3: Over het werken met proefdieren door medewerkers UMC Utrecht en Universiteit Utrecht . . . . .</b>	<b>79</b>
<b>Bijlage 4: Literatuur. . . . .</b>	<b>83</b>

# Voorwoord

Voor u ligt het gezamenlijke proefdierkundig jaarverslag 2012 van het Universitair Medisch Centrum Utrecht en de Universiteit Utrecht. Deze keer met speciale aandacht voor de inzet van proefdieren ten behoeve van het kankeronderzoek.

Kanker is een ziekte die veel voorkomt bij mensen en dieren. In Nederland wordt intensief onderzoek gedaan naar het ontstaan van kanker en naar methoden van behandeling. Naast proefdiervrije onderzoekstechnieken, vindt er ook (in latere fasen van het onderzoek) proefdier-gerelateerd onderzoek plaats. Jaarlijks worden er in Nederland ruim 100.000 proefdieren ingezet voor onderzoek naar kanker bij mens en dier.

Ook in Utrecht wordt door beide instellingen veel onderzoek gedaan naar kanker: Onderzoek naar kanker is een gezamenlijk speerpunt, in de hoop zoveel mogelijk mensen en dieren te kunnen helpen. In dit jaarverslag vindt u, naast de cijfers t.a.v. proefdieren, ook enkele voorbeelden van dit onderzoek.

Onderzoek naar kanker start doorgaans in het laboratorium, waar bijvoorbeeld gebruik gemaakt wordt van celkweken. Alleen wanneer resultaten betrouwbaar lijken,

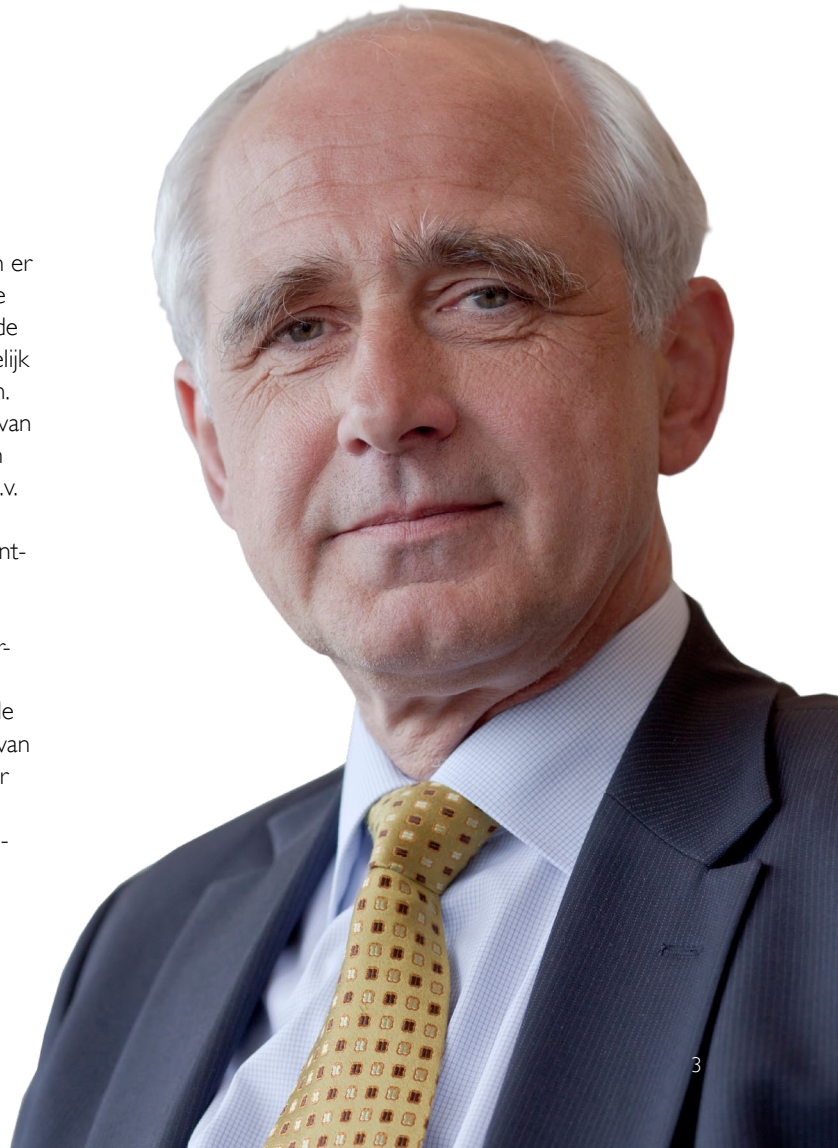
wordt de stap gemaakt naar het proefdier. In eerste instantie worden de laboratoriumresultaten nader onderzocht in muizen of ratten, in een volgende fase ook in grotere proefdiersoorten zoals het konijn of het varken. Positieve resultaten die behaald zijn in de dierexperimentele onderzoeksfase worden vervolgens getoetst op mensen, gezond en ziek, en/of zieke huisdieren. Uiteindelijk doel is het voorkomen van het ontstaan van kanker of het behandelen van patiënten.

Helaas blijkt dat resultaten van dierexperimenteel onderzoek niet altijd leiden tot adequate methoden voor bescherming van gezonde, of behandeling van zieke mensen en dieren. Dat maakt dat wij voortdurend kritisch moeten blijven ten aanzien van de motieven voor het uitvoeren van dierproeven. Het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht spannen zich in om te zoeken naar onderzoeksmethoden waarbij inzet van proefdieren niet langer nodig is, of waarbij de aantallen dieren of het leed voor de dieren zoveel mogelijk worden beperkt. Toch kunnen we dierexperimenten nog niet missen: tot op heden is er met alternatieven helaas nog onvoldoende informatie verkregen over het ontstaan van kanker, en over de werkzaamheid en veiligheid van geneesmiddelen om kanker te bestrijden.

Ik vind het van groot belang om aan iedere geïnteresseerde uit te leggen waarom en welk soort dierproeven er binnen onze instellingen plaatsvinden. Samen met enkele andere universiteiten en academische ziekenhuizen, en de Stichting Proefdiervrij, zoeken wij naar een maatschappelijk verantwoorde wijze van verslaggeving over dierproeven. Wij leren van elkaars jaarverslagen en van de feedback van de Stichting Proefdiervrij, en wij proberen ieder jaar een bijdrage te leveren aan de maatschappelijke discussie t.a.v. proefdiergebruik.

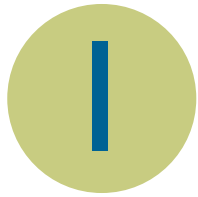
Het proefdieronderzoek is namelijk niet alleen een verantwoordelijkheid van de verschillende vergunninghouders voor dierexperimenten. Het is een gezamenlijke verantwoordelijkheid van de vergunninghouders, van de onderzoeker die een experiment bedenkt en uitvoert, van de dierversorgers die de dieren verzorgen, maar ook van de financiers die het onderzoek ondersteunen. In het licht van de resultaten is voor mensen die getroffen worden door kanker de gezamenlijke inspanning meer dan waard. Ik hoop van harte dat dit jaarverslag wederom een positieve bijdrage levert aan de discussie over dierproeven.

Prof.dr. G.J. van der Zwaan  
Rector magnificus Universiteit Utrecht









# 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 Koninklijke Nederlandse Academie van Wetenschappen (KNAW), de Verenigde Samenwerkende Nederlandse Universiteiten (VSNU) en de Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU) is ondertekend. De vergunninghouders van het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMC Utrecht) en de Universiteit Utrecht ondersteunen dit initiatief van harte. Zij 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). Het departement Dier in Wetenschap en Maatschappij van de Universiteit Utrecht voert al jaren dialoog met de samenleving 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 er voor gekozen om één proefdierkundig jaarverslag te maken. De doelgroep van dit jaarverslag wordt gevormd door diegenen die in wetenschap zijn geïnteresseerd en in het bijzonder in het wetenschapsgebied waarbij proefdieronderzoek een deel vormt van de totale onderzoeksprogramma's.

### Het ethisch dilemma

Gezondheid van mens en dier staan hoog in het vaandel van de Universiteit Utrecht en het UMC 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. Naast experimenten op basis van cel- en weefselkweektechnieken, computersimulaties en menselijke vrijwilligers, vindt ook onderzoek 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 laag 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 van een positief advies is voorzien, 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. Deze kennis 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 vijftienduizend 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, behandeling en 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. De Universiteit Utrecht acht het inzetten van proefdieren voor fundamenteel, toepassingsgericht en toegepast biomedisch onderzoek gerechtvaardigd op die terreinen waar alternatieve methoden nog niet of onvoldoende informatie opleveren en nieuwe kennis onontbeerlijk is om bestaande problemen op het terrein van gezondheid en welzijn van mens en dier te kunnen oplossen.

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 Utrecht 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. In 2012 was ongeveer 23% van het totaal aantal dierproeven dat werd uitgevoerd door de Universiteit Utrecht noodzakelijk voor de opleiding van (dieren)artsen en biomedisch onderzoekers. Beide organisaties achten het overigens niet goedgeoorloofd om in Utrecht op de campus onderzoek uit te voeren met primaten, omdat de faciliteiten ontbreken voor een adequate huisvesting. Evenmin wordt het acceptabel geacht om onderzoek uit te voeren waarbij het ongerief voor de dieren vooraf hoger wordt ingeschat dan 'ernstig'.



## 1.2 Wat doen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht

### **Kernactiviteiten UMC Utrecht in relatie tot dier-experimenteel onderzoek en onderwijs**

Het UMC Utrecht is een publieke instelling met drie kerntaken: onderzoek, onderwijs en patiëntenzorg. Het UMC Utrecht richt zich met betrekking tot onderzoek op 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 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 proefdier gerelateerde onderzoek dat in alle speerpunten onderdeel is van het onderzoek. In bijlage I worden de speerpunten nader toegelicht.

Voor het onderwijs in het UMC Utrecht zijn geen fundamentele veranderingen te melden. 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 basis specialistische zorg die ten dienste staat van onderwijs en onderzoek.

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.

De Universiteit Utrecht heeft gekozen voor vier onderzoeksthema's, Duurzaamheid, Instituten, Jeugd & Identiteit en Life Sciences. In het onderzoek m.b.t. de eerste drie thema's wordt geen proefdieronderzoek uitgevoerd. M.b.t. het vierde thema wordt wel proefdieronderzoek gedaan.

### **Life Sciences**

Infectieziekten, waaronder besmettingen van dier op mens, en chronische ziekten, zoals kanker en hart- en vaatziekten, zijn belangrijke maatschappelijke problemen die vragen om nieuwe medicijnen en technologieën. De gecombineerde inzet van kennis en expertise uit de Biologie, Scheikunde, Farmacie, Natuurkunde, Wiskunde, Geneeskunde, Kindergeneeskunde en Diergeneeskunde – de enige in Nederland - op deze terreinen is uniek en leidt tot baanbrekend




fundamenteel en patiëntgericht onderzoek op de grensvlakken van disciplines. De Universiteit Utrecht werkt nauw samen met het UMC Utrecht en andere partners die op de campus resideren: Hogeschool Utrecht, Hubrecht Instituut, Danone Research Centre for Specialised Nutrition. Er wordt ook intensief samengewerkt met andere belangrijke partners, waaronder Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek (TNO), het Rijksinstituut Volksgezondheid en Milieu (RIVM) en de Technische Universiteit Eindhoven.

Vanuit de Universiteit Utrecht worden binnen Life Sciences zes focusgebieden onderscheiden: Groei en Differentiatie,

Infectie & Immuniteit, Levenswetenschappen en Biocomplexiteit, Cardiovasculair Onderzoek, Geneesmiddelen innovatie en Epidemiologie. In bijlage 2 worden de focusgebieden nader toegelicht.

Op onderwijsgebied is de Universiteit Utrecht nog altijd 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 studenten monitor neemt nog steeds toe.

A photograph of a modern university building with a colorful, pixelated facade. The building is composed of many small, multi-colored squares in shades of green, yellow, red, and grey. In the foreground, a white bus with blue accents is visible, with the number '9292' on its side. A pedestrian bridge with a dark, textured facade connects the building to another structure on the right. The sky is clear and blue. The overall scene is a busy urban environment.

Ook in de Shanghai ranking is de Universiteit Utrecht al jaren de hoogst gekwalificeerde Nederlandse universiteit. Waar van toepassing wordt ook binnen het onderwijs aandacht besteed aan dierproeven om zo toekomstige onderzoekers bewust te maken van de 3Vs (verfijning, vermindering en vervanging) zodat gewerkt wordt aan een attitude waarbij het welzijn van dieren voorop staat.

## 1.3 Het stimuleren van alternatieven voor proefdieronderzoek

De Universiteit Utrecht heeft een voortrekkersrol op het terrein van het proefdierbeleid, dat is gericht op vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven, in Nederland. Er is een drietal hoogleraren werkzaam aan het thema alternatieven. De drie leerstoelhouders werken aan de ontwikkeling en toepassing van methoden die leiden tot vervanging, vermindering of verfijning van dierproeven, de zogenoemde 3V's.

Daarnaast participeren Utrechtse wetenschappers in verschillende samenwerkingsverbanden die het vinden van alternatieven bevorderen.

### 1.3.1 Leerstoelen Alternatieven

#### **De leerstoel “Alternatieven voor Dierproeven”**

##### **Prof. dr. Coenraad Hendriksen**

De hoogleraar Alternatieven voor dierproeven is parttime verbonden aan het Departement Dier in Wetenschap en Maatschappij (DWM) van de Faculteit Diergeneeskunde. Zijn activiteiten kunnen grofweg worden onderverdeeld in onderwijs & voorlichting en het initiëren en uitvoeren van onderzoeksprojecten.

Voor wat onderwijs & voorlichting betreft is in 2012 het college 'Alternatieven' verzorgd in de cursus Proefdierkunde aan vier universiteiten en aan de Hogeschool Utrecht. Daarnaast is meegewerkt aan individuele cursussen en zijn zowel in Nederland als daarbuiten een twintigtal lezingen over alternatieven voor dierproeven gegeven. Verder is meegewerkt aan een uitzending van het tv programma Labyrint van de VPRO en aan enkele krantenartikelen. De hoogleraar is lid van diverse nationale en internationale commissies en werkgroepen, zoals de Centrale Commissie

Dierproeven (CCD), de Mirror Group van het European Partnership on Alternative Approaches to Animal Testing (EPAA) en Scientific Advisory Committee van de European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM). Een belangrijke activiteit van de leerstoel is het beheer van de website 'Humane endpoints in laboratory animal experimentation' ([www.humane-endpoints.info](http://www.humane-endpoints.info)). Deze website helpt onderzoekers het ongerief van proefdieren te herkennen en te verminderen. Deze website is beschikbaar in de Engelse versie en binnenkort ook in de Nederlandse en Franse versie. Over een Spaanse vertaling wordt onderhandeld. In 2012 heeft ZorgOnderzoek Nederland – Medische Wetenschappen (ZonMw) aan de samenstellers van de website de ZonMw Parel toegekend.

De onderzoeksactiviteiten liggen vooral op het vlak van het ontwikkelen, valideren en implementeren van alternatieven binnen het wettelijk verplicht onderzoek. Hiervoor wordt veel samengewerkt met het Nederlands Vaccin Instituut (NVI, thans Intravacc), met het RIVM en met het Departement Bestuurs- en Organisationswetenschap (USBO) van de Universiteit Utrecht. Het onderzoek bij het NVI en RIVM richt zich vooral op alternatieven voor dierproeftesten in het onderzoek naar de vrijgave van vaccins (veiligheid- en werkzaamheidscontrole). Projecten liggen op het vlak van de ontwikkeling van weefselkweekmodellen voor veiligheidsonderzoek van vaccins, validatie van een alternatief voor het onderzoek van kinkhoestvaccin en op de uitwerking van een nieuwe strategie voor vaccincontrole; 'de consistency approach'. Dit laatste onderzoek heeft sterk de aandacht getrokken van de bovengenoemde organisatie EPAA en momenteel wordt samengewerkt met de

Europese vaccijnindustrie en met regelgevende instanties om de benadering verder te evalueren en te verbeteren. In samenwerking met USBO loopt een project naar de factoren die van invloed zijn op de acceptatie en gebruik van alternatieven voor dierproeven in het regelgevend onderzoek.

In 2012 is de hoogleraar co-promotor geweest van Mw.dr. Etje Hulzenbos aangaande QSAR methoden in het toxicologisch onderzoek (computermodellen die voorspellen of stoffen giftig zouden kunnen zijn) en is hij momenteel als (co)promotor betrokken bij 2 promotie studies. Een promotie project op het gebied van verfijning is voorbereid en zal begin 2014 van start gaan.

### **De Doerenkamp-Zbinden leerstoel “Alternatieven voor Dierproeven in de Toxicologische Risicobeoordeling”**

#### **Prof. dr. Bas Blaauboer**

In juli 2008 is de Doerenkamp-Zbinden leerstoel “Alternatieven voor Dierproeven in de Toxicologische Risicobeoordeling” ingesteld. De leerstoel is geplaatst binnen de Divisie Toxicologie van het Institute for Risk Assessment Sciences van de Universiteit Utrecht. Binnen de Divisie Toxicologie is het onderzoek voornamelijk gericht op het begrijpen van de toxische werking van lichaamsvreemde stoffen en gedurende de laatste decennia is het werk voornamelijk uitgevoerd met *in vitro* methoden. De leerstoelgroep bestaat nu uit de hoogleraar, een junior onderzoeker, vijf promovendi en twee analisten.

#### **De visie van de leerstoelgroep**

Het onderzoek richt zich op de dringende wens om de risicobeoordeling van mogelijk toxische stoffen te verbeteren, en hierbij tevens de noodzaak van het uitvoeren van dierproeven zo veel als mogelijk te verminderen, en waar mogelijk te vervangen door alternatieve methoden van onderzoek.

#### **De missie van de leerstoelgroep**

Het ontwerpen en toepassen van strategieën voor de ontwikkeling, acceptatie en toepassing van alternatieve (niet-diergebonden) methoden in de toxicologische risicobeoordeling.

#### **Onderzoek**

Binnen de leerstoelgroep wordt een zevental onderzoeken uitgevoerd. Dit betreffen onderzoeken die moeten leiden tot verbeterde cel- en weefselkweekmethoden voor het bepalen van toxiciteit van stoffen. Hierbij gaat het o.a. om onderzoeken naar hormoonverstorende stoffen, de rol van levercellen bij het ontgiften van stoffen, en de voorspellende waarde van computermodellen in combinatie met in vitromodellen in toxiciteitsonderzoek. Daarnaast is de groep betrokken bij de hierboven al eerder genoemde bestuurlijk-sociale studie i.s.m. met het USBO naar de factoren die de acceptatie van alternatieve methoden stimuleren of tegengaan.

#### **Onderwijs**

Vanuit de leerstoelgroep wordt onderwijs verzorgd binnen de cursussen toxicologie van het Institute of Risk Assessment Sciences (IRAS) voor studenten biologie, biomedische wetenschappen, diergeneeskunde en milieukunde,





met speciale aandacht voor de vernieuwingen in de toxicologie.

Ook is de groep betrokken bij een continuing education cursus "In vitro-in vivo extrapolation: the application of kinetic computer models" tijdens de European Society for In Vitro Methods (ESTIV) 2012 conferentie in Lissabon, Portugal.

#### **Overige output**

Leden van de leerstoelgroep hebben presentaties gegeven op vele congressen en andere wetenschappelijke bijeenkomsten in de vorm van (keynote) lezingen en poster presentaties.

Ook nemen de medewerkers regelmatig deel aan publieke discussies over de 3V's, in bijeenkomsten, radio-interviews en de pers (zie bijv. het interview gepubliceerd op de website van het Nationaal KennisCentrum Alternatieven voor dierproeven (NKCA): <http://www.nkca.nl/3v-s-in-de-praktijk/verkenning/b-blaaiboer-more-science-less-animals>) Een ander voorbeeld is het artikel in Bionieuws: Bas Blaauboer (2011) Nieuwe risicobeoordeling in de toxicologie, Bionieuws 29 oktober 2011, jaargang 21, p12.

Last-but-not-least publiceert de leerstoelgroep in wetenschappelijke tijdschriften.

#### **De leerstoel "Dierenwelzijn en Proefdierkunde" Prof. dr. Frauke Ohl**

Bron van inspiratie. Het onderzoek van de leerstoelgroep is gericht op de studie van het gedrag van dieren, om zodoende hun behoeften beter te leren begrijpen, zodat we daar rekening mee kunnen houden in onze omgang met dieren. De kennis daarvan is essentieel om het welzijn van

dieren, zoals ze dat zelf beleven, te kunnen waarborgen en daarnaast voor het verder verfijnen, verminderen of zelfs vervangen van dierproeven. Naast een nauwe samenwerking met wetenschappers uit verschillende onderzoeksvelden en studenten hechten de medewerkers zeer aan het verbeteren van de communicatie met de samenleving. De levenswetenschappen streven ernaar om de kwaliteit van het leven van mens en dier te vergroten - daarom moeten de beoefenaars van deze wetenschappen zo transparant mogelijk te werk gaan bij het verklaren hoe zij dit doel trachten te bereiken.

#### **Divisie Dierenwelzijn en Proefdierkunde**

Dierenwelzijn beschrijft een interne toestand zoals die door het dier zelf wordt ervaren. Naarmate het dier meer de grenzen van zijn eigen aanpassingsvermogen nadert, kan zijn welzijn in het gedrang komen. Als het dier niet meer in staat is zich aan te passen aan een situatie, d.w.z. als zijn aanpassingsvermogen wordt overschreden, zal het fysiologische reacties en gedragingen vertonen die geen adaptieve waarde hebben, bijvoorbeeld zelfbeschadigend gedrag. Het aanpassingsvermogen van een dier kenmerkt dan ook de welzijnstoestand van een dier, waarbij het niet meer in staat zijn tot het aanpassen aan de leefomstandigheden beschouwd moet worden als een toestand van slecht welzijn. Los van het 'gebruiksdoel' dat door de mens aan een dier wordt verleend (zoals gezelschapsdier, hobbydier, diertuindier, last-, trek- of rijdier, landbouwhuisdier of proefdier) benaderen wij dierenwelzijn vanuit een (patho)biologisch perspectief (van gezond en ziek) en in relatie tot ethische waarden en normen (bijvoorbeeld het erkennen van een intrinsieke waarde van dieren).

# 3V's

## Vervanging, Vermindering, Verfijning

De doelstellingen van de divisie Dierenwelzijn en Proefdierkunde zijn verder gericht op de kennisoverdracht en discussie van dierenwelzijn gerelateerde (incl. proefdierkundige) onderwerpen aan/met studenten, de wetenschappelijke gemeenschap en maatschappelijke organisaties. De divisie Dierenwelzijn en Proefdierkunde heeft onder andere als taak het organiseren van nationale en internationale cursussen proefdierkunde, welke wettelijk verplicht zijn voor wetenschappers betrokken bij dierproeven.

Verder verzorgt de leerstoelgroep welzijn gerelateerd onderwijs binnen het curriculum diergeneeskunde en worden er een post-graduate onderzoeksmaster Animal Welfare en de beroepsopleiding tot proefdierdeskundige aangeboden. De onderzoeksactiviteiten zijn ingebed in het onderzoeksprogramma Emotie en Cognitie van het facultaire Instituut voor Veterinaire Wetenschappen en zijn gericht op onderzoek naar emotie en cognitie (leer- en aanpassingsvermogen) bij dieren. Daarnaast streeft de groep naar verfijning van diermodellen en van dierexperimenten

door aandacht te geven aan experimentele technieken, huisvesting en genetische achtergrond van proefdieren. Het streven is om de kwaliteit van het dierexperiment te verhogen door de behoefte van de dieren (bijdragen aan hun welzijn) mee te laten nemen in de wetenschappelijke vraag van de onderzoeker. Op deze manier beoogt de groep een bijdrage te leveren aan het verbeteren van de kwaliteit en de betrouwbaarheid van onderzoeksresultaten om zo uiteindelijk het aantal proefdieren en eventuele aantasting van het welzijn te verminderen.

Bij het doen van onderzoek en het geven van onderwijs zijn de 3V's (Vervanging, Vermindering, Verfijning) de leidraad. De leerstoelgroep is initiatiefnemer voor het 3V-Centrum Utrecht Life Sciences en werkt nauw samen met het Nationaal KennisCentrum Alternatieven voor dierproeven (NKCA).

### I.3.2 Samenwerkingsverbanden 3V

Utrechtse wetenschappers zijn actief in een drietal organisaties die het alternatievenwerk bevorderen: het 3V Centrum Utrecht Life Sciences, het Nationaal KennisCentrum Alternatieven voor dierproeven (NKCA) en Sneller van Innovatie naar Mens (SLiM).

#### Het 3V-Centrum Utrecht Life Sciences

Op het Utrecht Science Park worden door de verschillende instellingen en bedrijven zowel dierproeven uitgevoerd als 3V-alternatieven hiervoor ontwikkeld. Om de ontwikkeling, acceptatie en implementatie van de 3V-methoden (ook wel alternatieven voor dierproeven genoemd) binnen de Utrecht Life Sciences te stimuleren, hierover te communiceren en om een netwerk op te bouwen en te onderhouden van 3V-experts, is het 3V-Centrum Utrecht Life Sciences (ULS) ingesteld.

Verder vinden diverse ontwikkelingen plaats, zowel wetenschappelijk als vanuit de overheid, die een coördinatie en informatiestroom naar de gebruikers (wetenschappers en docenten) en management toe rechtvaardigen. De nieuwe EU richtlijn 2010/63 ("betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt") voorziet in een belangrijke rol voor kennisuitwisseling en advisering over de 3Vs. Het 3V-Centrum adviseert het personeel o.a. over de 3Vs en nieuwe ontwikkelingen daarbinnen. De kennisuitwisseling kan leiden tot betere methoden, maar kan ook leiden tot toepassing van 3V-modellen in andere gebieden dan waarvoor ze oorspronkelijk ontwikkeld zijn, en voor betere afstemming met, bijvoorbeeld, de eisen die de regelgevers stellen aan nieuwe modellen. Ver-

der zal het 3V-Centrum het onderzoek naar 3V-methoden stimuleren door informatie over subsidiemogelijkheden, literatuur zoekstrategieën, begeleiding van validatie en implementatie, etc. beschikbaar te maken. Het uiteindelijke doel is het verminderen van het proefdiergebruik door toepassing van betere onderzoeks- en onderwijsmodellen. Het centrum verzorgt daarom onderwijs over vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven binnen verschillende cursussen en publiceert regelmatig een nieuwsbrief met relevante wetenschappelijke ontwikkelingen, nieuws, symposia en congressen, fondsen, etc. Het centrum is als adviseur nauw betrokken bij de implementatie van de Europese Richtlijn 2010/63 in de Wet op de dierproeven, m.n. waar dit het onderwijs betreft. Tevens werkt het samen met de leerstoelen op het gebied van de 3Vs en de proefdierdeskundigen, en is het betrokken bij activiteiten van het NKCA. Het 3V-Centrum ULS beheert een eigen website: [www.uu.nl/3VCentrumULS](http://www.uu.nl/3VCentrumULS) en kan benaderd worden voor vragen betreffende het toepassen van 3V-methoden binnen onderzoek en onderwijs. Het 3V-Centrum Utrecht Life Sciences is het initiatief van en organisatorisch ingebed in het Departement Dier in Wetenschap & Maatschappij van de Faculteit Diergeneeskunde.

#### Nationaal KennisCentrum Alternatieven voor dierproeven (NKCA)

Het NKCA is een samenwerkingsverband tussen de Faculteit Diergeneeskunde en het RIVM. Dit kenniscentrum wil de toepassing van 3V-alternatieven voor dierproeven stimuleren door kennisuitwisseling tussen professionals te bevorderen en samen te werken aan de Vervanging, Vermindering en Verfijning van dierproeven. Het NKCA geeft

integrale beleidsadvisering op basis van dialoog met de samenleving en participatie van belanghebbende partijen, zorgt voor het delen van kennis door onderwijs en communicatie, en brengt nationale kennis in bij kennisintensieve internationale gremia. Bij de Faculteit Diergeneeskunde zijn o.a. de activiteiten met betrekking tot onderwijs neergelegd en worden nationale en internationale activiteiten ont-plooid die de toepassing van in vitro methoden bevorderen.

### **Sneller van Innovatie naar Mens (SLiM)**

De Universiteit Utrecht maakt deel uit van het prestigieuze project SLiM. De doelstelling is om de implementatie van alternatieven voor dierexperimenten te versnellen. Het project beoogt de ontwikkelingsketen van methoden die dierproeven verminderen, verfijnen of vervangen, te optimaliseren en daarmee de innovatiekracht van het bedrijfsleven te versterken en de toepassing van deze methoden te stimuleren. Dit kan bereikt worden door vanaf het begin samenwerking en afstemming te stimuleren tussen de schakels in de keten: bedrijven, kennisinstellingen, overheid, regelgevende instanties en maatschappelijke organisaties, zodat alternatieven voor dierproeven snel(ler) geaccepteerd en geïmplementeerd kunnen worden. Geneesmiddelen en voedingsproducten dienen niet alleen bewezen werkzaam te zijn in de mens, maar moeten ook voldoen aan strikte veiligheidseisen. In dit veiligheidsonderzoek vormen dierproeven nog altijd een belangrijk onderdeel. Het SLiM-projectteam heeft, samen met onderzoekers van kennisinstellingen en bedrijfsleven uit Nederland en met vertegenwoordigers van de Nederlandse en Europese regelgeving, op diverse gebieden van

dit veiligheidsonderzoek kansrijke projecten gedefinieerd, welke binnen afzienbare tijd een bijdrage kunnen leveren aan het verminderen, verfijnen of vervangen van dierexperimenten.

Er worden vier voorbeeldprojecten uitgewerkt, waaruit aan het eind van het project "good practices" kunnen worden geïdentificeerd:

SLiM is pre-competitief en verkregen kennis komt beschikbaar voor iedere geïnteresseerde. Er wordt actief gewerkt aan de verspreiding van de resultaten en onderzoek gedaan naar de bevorderende en belemmerende factoren in de verschillende sectoren. Het projectresultaat zal bijdragen aan een protocol waarmee proefdieralternatieven efficiënter tot een toepassing kunnen komen, met name binnen de industrie, voor de beoordeling van de veiligheid van nieuwe producten.

# Vier 'SLiM'

## voorbeeldprojecten

1

### **Reproductiestoornissen.**

Voor het vaststellen van de effecten van geneesmiddelen op de ontwikkeling van de mens voor en na de geboorte worden veel proefdieren gebuikt, deels omdat deze stoffen, volgens voorschrift, zowel in de rat als in het konijn onderzocht dienen te worden. Uitgaande van een retrospectieve analyse van bestaande gegevens wordt onderzocht of met het gebruik van één diersoort kan worden volstaan. Er is ook een alternatief voorhanden, de Embryonale Stamcel Test (EST), maar deze is nauwelijks nog in gebruik bij de industrie, mede door het ontbreken van kwantitatieve uitleesparameters. In het onderzoek worden makkelijk meetbare genveranderingen gemeten. Bovendien zal onderzocht worden in hoeverre de EST als alternatieve test kan bijdragen aan vermindering van gebruik van proefdieren voor vaststellen van ontwikkelingsstoornissen. Voor dit onderzoek heeft het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG) toegang gegeven tot onderzoeksgegevens en wordt in internationaal verband nauw samengewerkt met de "United States-Food and Drug Administration" (US-FDA) en de Developmental and Reproductive Toxicology werkgroep van het Health and Environmental Sciences Institute, dat onder het International Life Sciences Institute valt (afgekort ILSI-HESI-DART)

2

### **Allergene werking van hypo-allergene eiwitproducten.**

Indien in laag-allergene producten voor allergische zuigelingen koemelk verwerkt is, moeten deze volgens EU richtlijnen worden getest op de mate waarop het product alsnog allergie kan veroorzaken. Hoewel hiervoor vaak cavia's gebruikt worden, heeft dit diermodel een slechte voorspelbaarheid voor de eventuele effecten in de mens. Daarbij zijn deze experimenten belastend voor de dieren. In dit project wordt een celkweektest ontwikkeld op basis van afweercellen die nauw betrokken zijn bij allergische reacties, zodat in de toekomst mogelijk geen dieren meer voor deze toepassing hoeven te worden gebruikt

### 3

#### **Carcinogeniteitstudies.**

Proefdieronderzoek naar de carcinogeniteit en mutageniteit van potentieel schadelijke stoffen veroorzaakt veel dierenleed en is heel kostbaar. De kennis die thans beschikbaar is ten aanzien van het ontstaan van kanker door dergelijke stoffen heeft geleid tot een mogelijke nieuwe teststrategie. In deze strategie zouden langdurige carcinogeniteitstudies tot 24 maanden kunnen worden vervangen door dierproeven van nog maar 6 tot 9 maanden, waarbij tevens veel minder dieren worden gebruikt. Het project zal een retrospectieve analyse uitvoeren op basis van bestaande gegevens van chemicaliën, voedingsingrediënten en geneesmiddelen om te bestuderen of de grenswaarden, gesteld op basis van een kortdurende studie, gebruikt kunnen worden om risico's t.a.v. de inductie van kanker te kunnen voorspellen. Het onderzoek vindt plaats in samenwerking met het CBG en regelgevers uit verschillende sectoren (European Medicines Agency (EMA), Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) en European Food Safety Agency (EFSA).

### 4

#### **Voorspellen van de opname van stoffen in het lichaam na inname via de mond.**

Publicaties hebben aangetoond dat de voorspellende waarde van diergegevens met betrekking tot de bio-beschikbaarheid van stoffen gering is. Door alternatieven te ontwikkelen voor het bepalen van de opname van stoffen in het lichaam zouden betrouwbaardere resultaten verkregen kunnen worden en veel dierproeven voorkomen kunnen worden. De voorspelling van de opname van stoffen zou bepaald kunnen worden middels in vitro (laboratorium) methoden of computersimulaties. Er zijn al verschillende alternatieven beschikbaar. Echter, voor inname van stoffen via de mond bestaat nog geen duidelijke teststrategie, die aangeeft welk model voor welke stof of vraagstelling geschikt is. Dit onderzoek richt zich op de vraag welke alternatieve methoden een goede indicatie geven van de beschikbaarheid van stoffen na inname via de mond.





# 2 De cijfers

## 2.1 Totaal aantal proefdieren en doel van de proef

In grafiek 1 staat het totaal aantal proefdieren dat jaarlijks wordt gebruikt. Over de jaren heen zien we een lichte stijging van het aantal dieren o.a. door het toenemende gebruik van genetisch gemodificeerde dieren (dit zijn dieren waarvan het erfelijk materiaal is veranderd). Van deze groep dieren is altijd maar een klein deel (dat deel dat de juiste genetische eigenschappen heeft) bruikbaar voor de dierproef.

Over het verslagjaar 2012 is een daling van ruim 5500 dieren te zien. Oorzaken van deze plotselinge daling zijn

onder andere een infectie (muis parvovirus) in een deel van het Gemeenschappelijk Dierenlaboratorium, verbouwingsactiviteiten in twee dierfaciliteiten, daling van voor onderzoek beschikbaar budget en tijdelijk vertrek van medewerkers vanwege specialistenopleidingen. Door deze ontwikkelingen zijn dierproeven tijdelijk uitgesteld of in het geheel niet gepland.

grafiek 1

Proefdiergebruik UU/UMCU 2000-2012



Diagram 1 geeft het doel van dierproeven weer. Meestal is het doel van de proef de beantwoording van een wetenschappelijke vraagstelling. De paarse taartpunt geeft het percentage onderzoek weer waar de onderzoeker expliciet het woord kanker heeft genoemd als doel van de proef. Dat zijn echter niet alle proeven naar kanker; Fundamenteel onderzoek naar kanker kan ook in de categorie "overig wetenschappelijk onderzoek" zijn ondergebracht. Het is daarom niet precies vast te stellen hoeveel procent van het onderzoek zich rondom kanker afspeelt.

De categorie onderwijs is, t.o.v. andere instellingen, relatief groot vanwege de vele practica met dieren binnen de opleiding tot dierenarts aan de Faculteit Diergeneeskunde.

diagram 1

### Totaal aantal dierproeven en het doel van de dierproeven binnen de Universiteit Utrecht en het UMC Utrecht in 2012

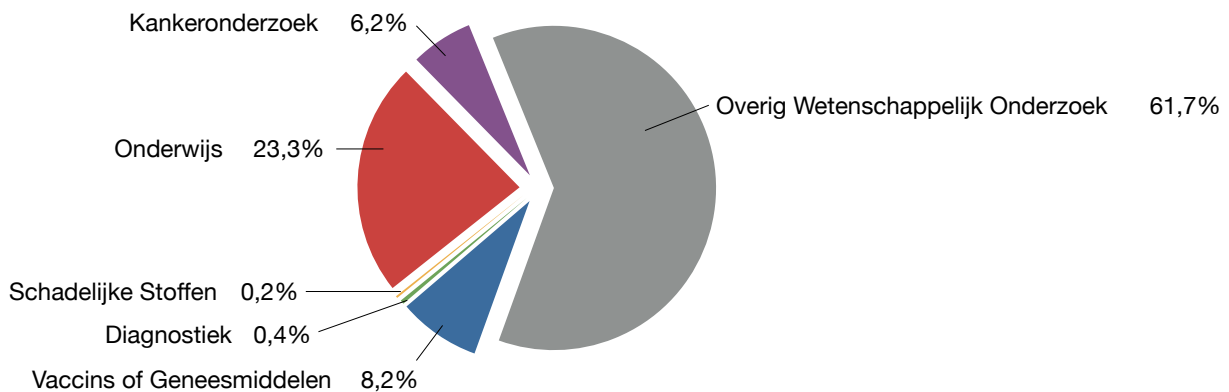
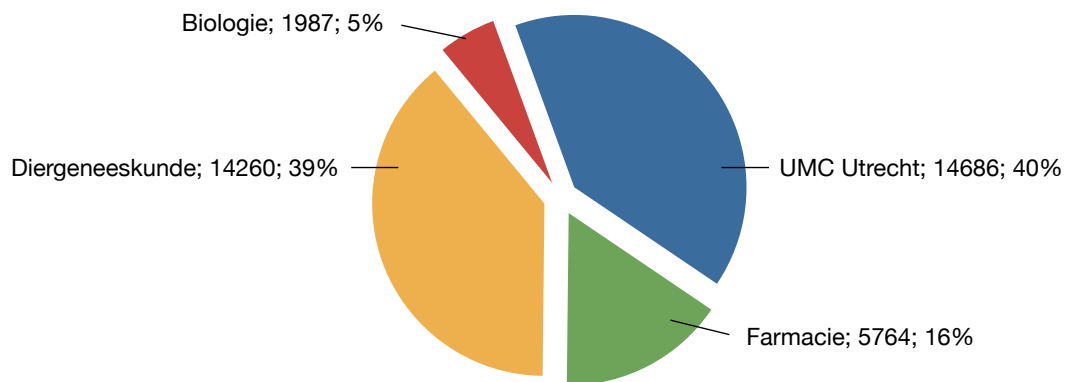


Diagram 2 geeft een overzicht, in aantallen en percentages van het totaal aantal dierproeven verdeeld over de verschillende faculteiten van de Universiteit Utrecht en het UMC Utrecht.

diagram 2

**Totaal aantal dierproeven Universiteit Utrecht en het UMC Utrecht in 2012,  
uitgesplitst per faculteit/instelling**



## 2.2 Overschot aan dieren

Tabel I geeft het aantal dieren in voorraad weer dat in 2012 werd geëuthanaseerd.

Er worden ten behoeve van dierexperimenteel onderzoek veel dieren in eigen beheer gefokt. Deze fok betreft voornamelijk muizen, die in veel gevallen genetisch gemodificeerd zijn, waardoor ze een gen missen of waarbij een specifiek humaan gen is ingebouwd. Bij de fok van deze unieke muizenstammen worden helaas ook veel dieren geboren die niet de gewenste genetische achtergrond (het zgn. genotype) of het gewenste geslacht hebben. Het komt niet zelden voor dat bij gecompliceerde kruisingen tussen twee genetisch gemodificeerde stammen slechts 12,5% van de nakomelingen geschikt is voor het onderzoek.

Bij alle fokactiviteiten worden tevens de ouderdieren na enige tijd vervangen. Dit gebeurt niet alleen om de ouderdieren niet onnodig te belasten, maar ook om ongewenste inteelt te voorkomen of juist behoud van genetische variatie te garanderen.

Tabel I bevat tevens dieren die eerder werden gebruikt voor onderzoek of onderwijs en waarbij er geen noodzaak bestond om de dieren te doden t.b.v. nader onderzoek. Zo worden in het kader van de opleiding diergeneeskunde vele practica verzorgd waarbij dieren worden ingezet. Volgens de Wet op de dierproeven dienen deze activiteiten te worden beschouwd als dierproeven, maar tijdens de meeste practica ondervinden de dieren nauwelijks hinder (zie voor een nadere toelichting het proefdierkundig jaarverslag 2010). Na verloop van tijd kan het noodzakelijk zijn om een deel van de voorraad onderwijsdieren vanwege hun leeftijd te vervangen voor jongere exemplaren. Afhankelijk van de diersoort worden onderwijsdieren pas na vele jaren vervangen.

**Tabel I - Aantal dieren gedood in voorraad in 2012**

	Gedood in voorraad	
	UU	UMCU
muis	1958	1753
rat	148	389
hamster		
cavia	6	
andere knaagdieren		
konijn		
hond	31	
kat		
fret	5	
andere vleeseters		
paard		
varken		
geit		
schaap		
rund		
andere zoogdieren		
kip	45	
kwartel		
andere vogels	40	
reptiel	5	
amfibie		
vis	561	96
transgene muis	3434	9549
transgene rat		86
transgene vis	1025	1300

Tot slot kan het voorkomen dat dieren, die in voorraad aanwezig zijn, onverwacht ziek worden of andere gezondheidsproblemen ontwikkelen (bijv. ernstig gewond raken na onderlinge agressie). In dergelijke gevallen kan besloten worden om dieren te euthanaseren om onnodig lijden te vermijden.

Vanzelfsprekend is het gewenst om bij fokactiviteiten het aantal overtollige nakomelingen tot een minimum te beperken. Dit kan zowel bereikt worden door een efficiënt fokbeleid alsook door een efficiënt gebruik van de geproduceerde nakomelingen. Zo is de DEC Utrecht in 2012 gestart met het stimuleren van het inzetten van beide seksen bij dierproeven.

Indien dieren overtollig zijn, wordt doorgaans getracht een andere bestemming voor deze dieren te vinden. Zo worden overtollige dieren regelmatig ingezet voor het trainen van specifieke vaardigheden. Daarnaast wordt onderzocht of er mogelijkheden zijn om de dieren te (her)gebruiken voor (ander) onderzoek of voor praktisch onderwijs. In een beperkt aantal gevallen kunnen proefdieren ook buiten de instelling worden herplaatst als gezelschapsdier of kunnen zij retour gaan naar de oorspronkelijke leverancier. Alleen wanneer er geen enkele mogelijkheid bestaat om proefdieren in voorraad op een nuttige wijze in te zetten, dan wordt besloten de dieren te euthanaseren. Overigens worden regelmatig nog bloed, cellen, weefsels en/of organen van de kadavers verzameld en bewaard voor nader onderzoek of als referentiemateriaal.

## 2.3 Diersoorten en aantal dierproeven per diersoort

In tabel 2 staan per diersoort de totaalgegevens van het aantal proefdieren dat werd ingezet voor onderzoeks- of onderwijsdoeleinden, het aantal proefdieren dat werd gedood na afloop van de proef en het totaal aantal dierproeven dat werd verricht. Uit de cijfers blijkt dat de meeste muizen, ratten en vissen aan het einde van een dierproef werden geëuthanaseerd. Zoals reeds gemeld werden proefdieren soms ook opnieuw voor een andere dierproef gebruikt, of meerdere malen in het onderwijs, daar waar minimaal ongerief wordt berokkend. Dit valt op te maken uit het feit dat er meer dierproeven werden verricht dan dat er dieren werden ingezet.

**Tabel 2 - Diersoorten en aantal dierproeven per diersoort**

	Aantal proefdieren ingezet		Aantal proefdieren gedood		Totaal aantal dierproeven verricht	
	UU	UMCU	UU	UMCU	UU	UMCU
muis	8.084	6.222	7.306	6.209	8.810	6.229
rat	2.277	2.787	1.924	2.734	2.503	2.787
hamster	42	0	12	0	76	0
cavia	158	63	46	63	178	63
andere knaagdieren	0	0	0	0	0	0
konijn	108	72	21	72	200	72
hond	348	32	59	32	520	32
kat	209	0	75	0	259	0
fret	90	0	0	0	106	0
andere vleeseters	0	0	0	0	0	0
paard	455	0	25	0	690	0
varken	1.548	242	364	242	1.548	242
geit	6	7	2	7	9	7
schaap	55	39	21	39	61	39
rund	1.704	0	81	0	2.271	0
andere zoogdieren	10	0	0	0	10	0
kip	1.306	0	1.095	0	1.472	0
kwartel	0	0	0	0	0	0
andere vogels	329	0	74	0	478	0
reptiel	47	0	0	0	92	0
amfibie	15	0	11	0	19	0
vis	1.321	544	774	544	1.321	544
transgene muis	1.047	4.080	1.019	4.006	1.061	4.080
transgene rat	0	135	0	135	0	135
transgene vis	66	456	66	456	66	456
andere vogels, wildvang	261				261	
<b>Totaal</b>	<b>19.486</b>	<b>14.679</b>	<b>12.975</b>	<b>14.539</b>	<b>22.011</b>	<b>14.686</b>

## Dierdonorcodicil

Vanuit een gezamenlijk streven het aantal benodigde proefdieren ten behoeve van praktisch onderwijs in de anatomie en chirurgie te reduceren, werd in 2010 door de Universiteit Utrecht een overeenkomst gesloten met de Stichting Proefdiervrij; het Dierdonorcodicil. Bij een grote groep dierenartsenpraktijken in de regio Utrecht kunnen eigenaren van huisdieren aangeven, wanneer in het kader van het behandelplan besloten wordt hun huisdier te laten inslapen, het dier ter beschikking te willen stellen ten behoeve van het praktisch onderwijs aan de Universiteit Utrecht. Niet alleen wordt door dit initiatief voorkomen dat proefdieren speciaal voor practica worden gedood, maar tegelijk is er een grotere veelzijdigheid aan rassen en formaten waarmee de aanstaande dierenartsen worden geconfronteerd, waardoor zij beter worden voorbereid op de latere beroepspraktijk. Tabel 3 geeft het aantal dieren weer dat sinds de start van het project Dierdonorcodicil werd aangeboden. Met dit aantal aangeboden dieren wordt inmiddels in ongeveer een derde van de behoefte voorzien. Het streven is te komen tot een 100% dekking en daarmee proefdiergebruik voor deze practica totaal overbodig te maken.

Tabel 3  
Aangeboden huisdieren

Honden	250
Katten	253
Konijnen	23
Cavia's	9
Ratten	7
Fretten	1



## 2.4 Ongerief per dier

De dieren in dierproeven ervaren ongerief of lopen een risico op het ervaren van ongerief. Ongerief is een verzamelterm en staat volgens normen van de Europese Commissie gelijk aan pijn, lijden, angst en/of blijvende schade. Andere vormen van ongerief zijn bijv. jeuk, stress of (tijdelijke) verlamningsverschijnselen.

De huidige Wet op de dierproeven onderscheidt een zestal categorieën: gering, gering/matig, matig, matig/ernstig, ernstig en zeer ernstig. De volgende voorbeelden zijn bedoeld om een idee te geven van de beoordeling van het ongerief dat proefdieren kunnen ervaren tijdens dierproeven. Hierbij dient ervan uitgegaan te worden dat de persoon die een (be)handeling uitvoert, bekwaam is. Dat wil zeggen dat zij/hij door passende opleiding en training over de noodzakelijke vaardigheden beschikt om de (be)handeling met minimale belasting voor de dieren te kunnen uitvoeren.

### Gering:

- Wegen van dieren
- Fixeren van een muis en opmeten van een tumor
- Het op humane wijze doden van een proefdier

### Gering/matig:

- 1x per week, 8 weken lang, een injectie van een chemische stof in de staartader van een muis toedienen
- Solitaire huisvesting van ratten voor ca. 7 uur
- Het 4 x in 97 dagen bloed afnemen bij een muis (<100 µl)

### Matig:

- Ongerief als gevolg van tumorgroei in de borst en het ontstaan van uitzaaiingen bij de muis
- 1x per week toedienen van een injectie met antistoffen in de buikholte bij de muis waardoor er een ontstekingsreactie in de buikholte ontstaat
- Wondpijn ten gevolge van een huidsnede wegens een keizersnede bij het schaap; na 10 dagen worden hechtingen verwijderd en wordt de wond, indien zich geen complicaties voordoen, als genezen beschouwd

## Voorbeelden van ongerief



### Matig/ernstig:

- Het wekelijks (4 weken lang) onder anesthesie brengen van muizen m.b.v. gasanesthesie gevolgd door een injectie van 10 µl luciferine (chemische stof die tumoren doet oplichten), waarna er een foto gemaakt wordt met een zeer lichtgevoelige camera (bioluminescentie imaging)
- Bij de muis éénzijdig afbinden van de urinebuis van de linker nier via een flankoperatie onder gasanesthesie, waardoor de muis nog één gezonde nier overhoudt
- Het geven van premedicatie (standaard voorbehandeling met geneesmiddelen voor een operatie), het onder volledige narcose brengen en het uitvoeren van een open borstoperatie bij een varken

De beide instellingen doen geen dierproeven, waarbij er sprake is van zeer ernstig ongerief.

### Ernstig:

- Blootstelling aan een specifieke stof, waarvoor muizen vooraf extra gevoelig zijn gemaakt, waardoor er een ernstige overgevoeligheidsreactie kan optreden
- Injectie in de staart van een muis met cellen van humane oorsprong; dit kan resulteren in het optreden van een afstotingsreactie; als deze reactie optreedt kan dit gepaard gaan met ernstig ongerief
- Het openen van de borstholte gevold door een tijdelijke en gedeeltelijke onderbreking van de doorbloeding van het hart, waardoor een hartinfarct ontstaat; het hartinfarct kan leiden tot ritmestoornissen tijdens de operatiesessie, waaraan het dier kan overlijden. Dit kan na de operatie ook gebeuren. Meestal is het dier bij zo'n ritmestoornis snel dood. Ook kan door het infarct hartfalen ontstaan. Dit kan zich uiten in vermoeidheid, verminderd eten, niet actief zijn en gewichtstoename

## 2.5 Toezicht

In tabel 4 staat de mate van ongerief weergegeven zoals geconstateerd tijdens de uitvoering van de dierproeven. Daaruit blijkt dat de dierproeven bij de Universiteit Utrecht gemiddeld minder belastend zijn, dan bij het UMC Utrecht. Een deel van het verschil wordt verklaard door het relatief grote aantal weinig belastende dierproeven dat bij de Universiteit Utrecht voor onderwijsdoeleinden verricht wordt. Zie voor een nadere toelichting het Proefdierkundig Jaarverslag 2010 ([www.uu.nl/dierproeven](http://www.uu.nl/dierproeven), subpagina 'meer informatie').

Volgens de Wet op de dierproeven mogen dierproeven alleen worden opgezet en uitgevoerd door personen die hiervoor een speciale opleiding hebben genoten en aantoonbaar bevoegd en bekwaam zijn. Ook mogen dierproeven alleen worden uitgevoerd nadat een dierexperimentencommissie hiervoor een positief advies heeft afgegeven en de vergunninghouder dit advies heeft overgenomen. De DEC maakt hiertoe een ethische afweging tussen het mogelijke ongerief dat aan het proefdier wordt toegebracht en het wetenschappelijk en maatschappelijk belang van het experiment. Ook wordt gekeken of alle maatregelen zijn getroffen om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken en het ongerief bij het proefdier zo laag mogelijk te laten zijn. Het is niet toegestaan de dierproef op een andere wijze uit te voeren dan door de DEC is goedgekeurd.

**Tabel 4 - Weergave van hoeveel ongerief de dierproeven hebben veroorzaakt**

Mate van ongerief	UU		UMCU	
	Totaal aantal dierproeven	relatief	Totaal aantal dierproeven	relatief
Gering	6820	31,0%	3720	25,3%
Gering-matig	8897	40,4%	1714	11,7%
Matig	4299	19,5%	5277	35,9%
Matig-Ernstig	1663	7,6%	2502	17,0%
Ernstig	332	1,5%	1473	10,0%
Zeer ernstig	0	0,0%	0	0,0%
<b>totaal</b>	<b>22011</b>	<b>100%</b>	<b>14686</b>	<b>100,0%</b>

## 2.6 Het proefdierkundig jaarverslag 2012

Om toe te zien op de naleving van de wettelijke voorschriften voorziet de Wet op de dierproeven in zowel interne als externe controle. Het interne toezicht vindt plaats door de proefdierdeskundigen (art. 14, Wet op de dierproeven), die een volledig onafhankelijke positie binnen de organisatie innemen. Zij trachten primair via gevraagd en ongevraagd advies op alle niveaus binnen de organisatie het proces rond zorg voor en gebruik van proefdieren in goede banen te leiden. Daarnaast voeren zij interne inspecties uit, zowel onaangekondigde alsook op afspraak om bij de uitvoering van een dierexperiment aanwezig te kunnen zijn. De inspecteurs van de Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit (NVWA) zijn verantwoordelijk voor het externe toezicht conform art. 20 Wet op de dierproeven. Inspectiebezoeken van de NVWA inspecteurs zijn doorgaans onaangekondigd en worden zoveel mogelijk begeleid door de proefdierdeskundigen. Zie ook bijlage 3.

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. Vanaf 2010 zijn de proefdierkundig jaarverslagen gepubliceerd op de websites van beide instellingen (zie [www.uu.nl/proefdieren](http://www.uu.nl/proefdieren) en [www.umcutrecht.nl/overumcutrecht/Publicaties](http://www.umcutrecht.nl/overumcutrecht/Publicaties)). In 2010 is het thema "Proefdieren ten behoeve van het praktisch onderwijs" belicht. In het proefdierkundig jaarverslag 2011 is het onderzoek met het varken als proefdier uitgebreid aan de orde gekomen. Dit jaar ligt het accent op onderzoek naar kanker. In het volgende hoofdstuk worden enkele voorbeelden van onderzoek naar kanker toegelicht.



# 3

## Onderzoek naar kanker

### 3.1 Wat is kanker?

Ons lichaam is samengesteld uit diverse organen die door hun verschillende functies ervoor zorgen dat wij onder diverse omstandigheden kunnen overleven. Zij zorgen voor basisfuncties als het aanvoeren van voedsel en het afvoeren van afvalproducten, het omzetten van voedsel in energie of energieopslag, het aftasten van de omgeving en daar zo nodig op reageren, de verdediging tegen beschadiging, zowel fysiek als door ziektemakers, etc.

Elk orgaan is opgebouwd uit cellen, de fundamentele bouwstenen van het leven. Elke cel kan beschouwd worden als een zelfstandig levende eenheid, met een eigen energiecentrale, aanvoerroutes voor voedsel, afvalverwijderaars, bouwsteenproducenten en onderdelen die alle processen aansturen. Deze onderdelen heten genen. De genen bepalen hoe de cel reageert als deze in aanraking komt met bepaalde stoffen of andere cellen. Vanuit de genen wordt ook bepaald of een cel gaat delen of juist dood moet gaan. Door de samenwerking van diverse soorten cellen met onderling verschillende maar elkaar aanvullende functies wordt een functioneel organisme gevormd, een plant of een dier.

Een mens bestaat, bij benadering, uit  $10^{14}$  cellen, dat is een 1 met 14 nullen (100 biljoen). En die zijn allemaal ontstaan uit die ene bevruchte eikel. Om zover te komen hebben dus heel veel celdelingen plaatsgevonden. De celdelingen zijn ook nodig om ons lichaam in stand te houden. Ook als we zijn uitgegroeid, vinden nog doorlopend miljoenen celdelingen per dag plaats, of om oude cellen te vervangen, of omdat de functie van het orgaan doorlopend om

nieuwe cellen vraagt: bijv. huid, ingewanden, beenmerg (om bloedcellen te maken), testis (om sperma aan te maken). Een goede celdeling is dus belangrijk, maar wel op de juiste plaats, op het juiste moment, op de juiste manier en door de juiste cel. Het is niet moeilijk voor te stellen dat de kans groot is dat er bij zoveel delingen regelmatig iets misgaat: een verkeerde celdeling die leidt tot een foute cel. Gelukkig hebben we ook reparatiegenen. Deze genen kunnen over het algemeen de ontstane schade weer herstellen. We hebben ook nog een immuunsysteem (afweersysteem) dat helpt. Het immuunsysteem is in staat om sommige foute cellen te herkennen en op te ruimen.

Als een foute cel aan de aandacht ontsnapt kan deze ongecontroleerd gaan groeien. We noemen het resultaat van deze ongecontroleerde groei een tumor. Er zijn heel veel verschillende tumoren. De variatie wordt enerzijds veroorzaakt doordat een tumor door verschillende oorzaken kan ontstaan. Sommige tumoren ontstaan doordat er lokaal, door wat voor oorzaak dan ook, fouten in het groei-stimulerende of groei-remmende regelmechanisme optreden. Zo moet een cel op tijd dood gaan, bijvoorbeeld als de cel niet meer nodig is of als er beschadigingen zijn opgetreden. Andere tumoren ontstaan door invloed van externe factoren (zonlicht, chemische stoffen, virussen) die verstorend werken op de celdelingcontroleerende mechanismen. Weer andere tumoren hebben ook een genetische oorsprong. De variatie in tumoren wordt anderzijds veroorzaakt door het feit dat in principe elke cel van ons lichaam tot een tumor kan uitgroeien.

Niet elke tumor wordt beschouwd als een kanker. De meest bekende tumor, de wrat, is over het algemeen een onschuldige lokale woekering van huidcellen veroorzaakt door een virus. Dit soort tumoren, ook wel gezwellen of goedaardige tumoren genoemd, kunnen zich lokaal vormen, groeien niet door andere weefsels heen en verspreiden zich niet verder door het lichaam. Wel kan zo'n gezwel op een gegeven moment op andere organen gaan drukken en daardoor de functie van die organen verstoren. Meestal wordt zo'n gezwel dan verwijderd.

Kwaadaardige tumorcellen groeien wel naar of door andere organen (infiltratie) heen en verspreiden zich door het lichaam om ergens anders nieuwe tumorhaarden te ontwikkelen (uitzaaiingen of metastasen). Deze kwaadaardige tumoren worden kanker genoemd. Kanker komt veel voor en is de eerste doodsoorzaak bij mensen. Ten eerste is dat omdat kanker vaak in een relatief laat stadium wordt ontdekt. Tijdige diagnose kan behandeling van kanker in een vroeg stadium mogelijk maken. Vandaar ook dat er nieuwe kankerdetectiemethoden worden ontwikkeld. De tweede reden van de grote doodsoorzaak is dat de therapieën niet altijd toereikend zijn.

De meest bekende therapieën voor kanker zijn bestraling (ook wel radiotherapie genoemd) en chemotherapie. Bestraling vindt zoveel mogelijk gericht op de tumor plaats en heeft als doel de tumorcellen te vernietigen. Met chemotherapie worden groei-remmende stoffen (cytostatica) toegediend die de verdere groei van de tumor moeten belemmeren. De behandelingen hebben veel bijverschijnselen. Zowel chemotherapie als bestraling beschadigen

ook de gezonde cellen. Daarom wordt er gezocht naar behandelmethoden die specifiek en alleen de kankercellen aanpakken.

Nieuwe methoden van chemotherapie zijn er bijvoorbeeld op gericht om de cytostatica alleen op de plek van de kanker te laten vrijkomen, zodat gezonde weefsels niet of nauwelijks worden aangetast. Ook werken onderzoekers aan methoden om de stralingsdeeltjes alleen lokaal op de plek van de tumor te plaatsen. Er wordt ook naar andere therapieën gezocht. Er zijn bijvoorbeeld kankersoorten (borst-, prostaat- en baarmoederhalskanker) die hormoongevoelig zijn en daarom worden therapieën ontwikkeld met behulp van hormoonbehandelingen. Ook wordt er naar methoden gezocht die het immuunsysteem beter uitrusten om de tumorcellen zelf op te ruimen.

Veel van het onderzoek vindt in eerste instantie plaats door middel van cel- en weefselkweektechnieken. Deze technieken zijn echter een simplificatie van de werkelijkheid, omdat allerlei regel- en beschermingssystemen van ons lichaam niet aanwezig zijn. Is een techniek veelbelovend gebleken, dan wordt het experiment uitgebreid naar een proefdier. Hierbij wordt de werkzaamheid in een compleet organisme bekeken en kunnen bijwerkingen worden vastgesteld. Dierproeven zijn ook verplicht voordat men de effecten in klinische studies bij de mens kan gaan uitvoeren. Hoewel dieren niet in alle aspecten op de mens lijken, maken resultaten uit dierproeven het mogelijk om gericht in mensen verder onderzoek te doen.

## 3.2 Voorbeelden van onderzoek naar kanker

In de volgende paragrafen volgen enkele voorbeelden van onderzoek naar oorzaak en behandeling van kanker, waarvoor binnen het UMC Utrecht en de Universiteit Utrecht proefdieren werden ingezet.

### 3.2.1. Ontwikkeling van nieuwe behandelingen voor de ziekte van Kahler (multipel myeloom) met behulp van een gehumaniseerd muizenmodel

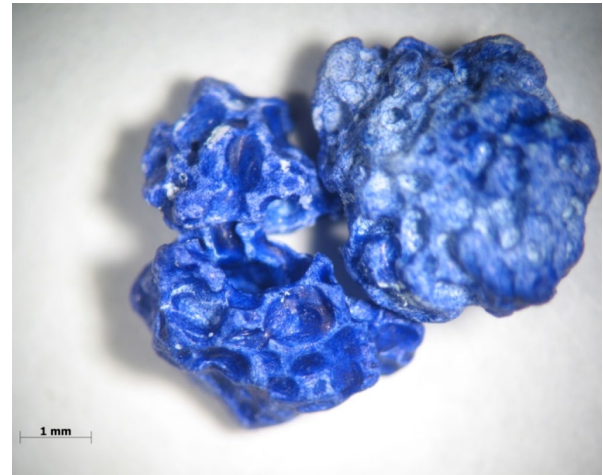
#### Door:

Dr. Anton C.M. Martens, stafid divisie Biomedische Genetica, afdeling Celbiologie, Laboratorium voor celgroei en differentiatie

Dr. Richard W.J. Groen, PostDoc divisie Biomedische Genetica, afdeling Celbiologie

#### Achtergrond

Een van de belangrijkste doelstellingen van proefdieronderzoek is het ontwikkelen van ziektemodellen die zoveel mogelijk lijken op ziekteprocessen zoals die zich bij de mens afspelen. Het diemodel in ons onderzoek betreft een gehumaniseerd muizenmodel om daarin hematologische (= bloed) tumoren zoals acute leukemie en multipel myeloom (ziekte van Kahler) te bestuderen. Een tweede doelstelling is om de ontwikkelde modellen in te zetten voor het ontwikkelen van nieuwe therapeutische toepassingen voor de behandeling van patiënten. Het grootste struikelblok in de afgelopen decennia bij dit onderzoek was dat leukemiecellen en, in nog sterkere mate, myeloom cellen specifieke eisen stellen aan de omstandigheden waarin ze kunnen overleven c.q. groeien. Kortom, het in vitro of

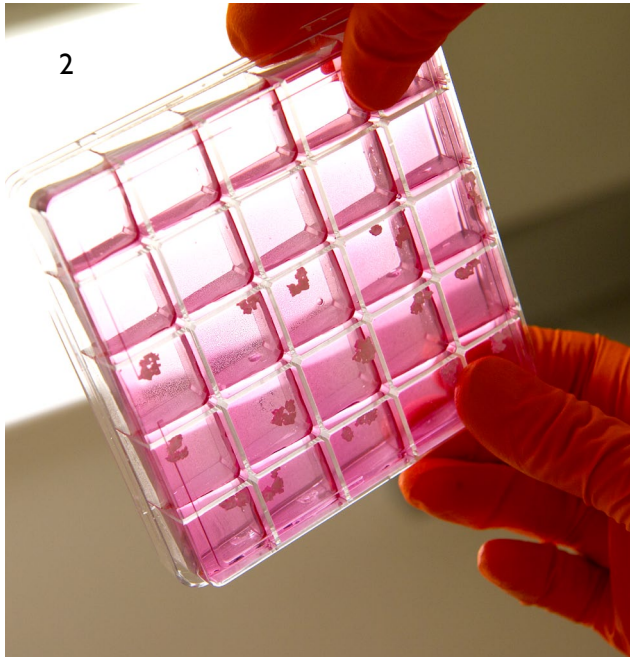


*Figuur 1: Een voorbeeld van een scaffold die beladen is met mesenchymale stromale cellen (MSC), die daarna 1 week in vitro in medium is doorgekweekt en klaar is om geïmplant te worden. De cellen zijn blauw aangekleurd.*

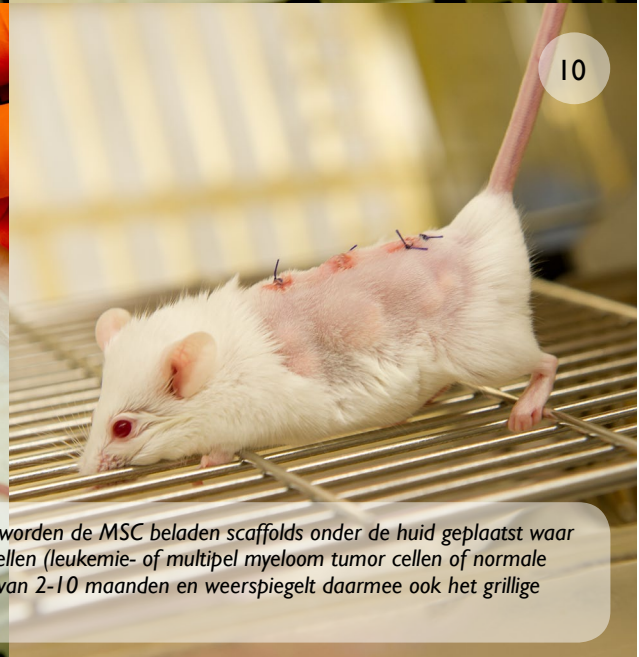
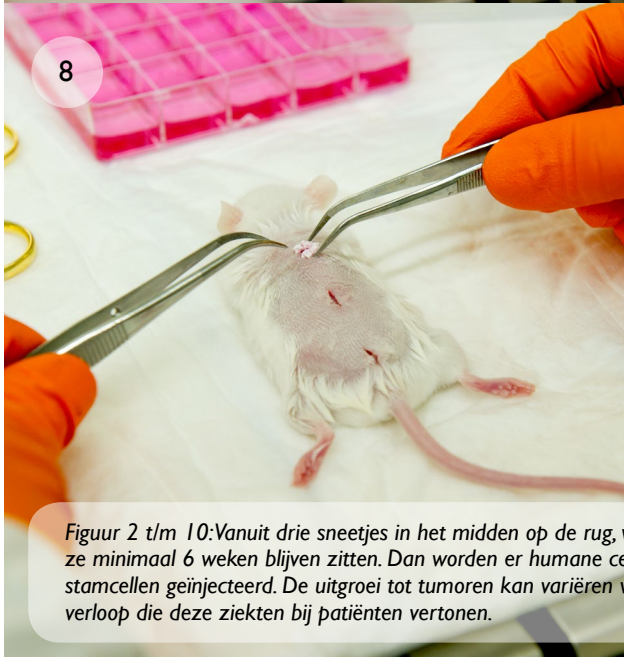
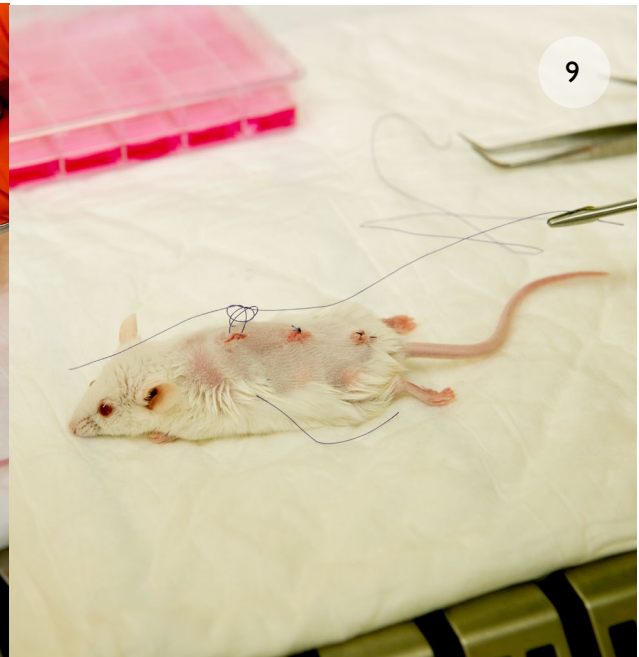
in vivo kweken van tumorcellen van leukemie- of myeloompatiënten was, ook na tientallen jaren van onderzoek, nauwelijks of niet mogelijk. De reden daarvoor is dat deze cellen dermate speciale eisen stellen aan hun "natuurlijke" omgeving, zoals die zich in het beenmerg voordoen, dat dit niet in vitro of in vivo te reproduceren viel. Tot voor kort was dat de situatie.

#### Doel / hypothese

Recent is dat veranderd door gebruik te maken van een functionele test voor botvorming in een muizenmodel dat in het orthopedisch-/tissue engineerings (= weefsel maken) onderzoek wordt gebruikt. Daartoe worden stromale stamcellen uit humaan beenmerg opgekweekt, uitgezaaid op een (zeer poreus) keramisch dragermateriaal (ook wel "scaffolds" genoemd) en onder de huid van muizen met een verzwakt immuunsysteem geplaatst (zie fig. 1 t/m 10).

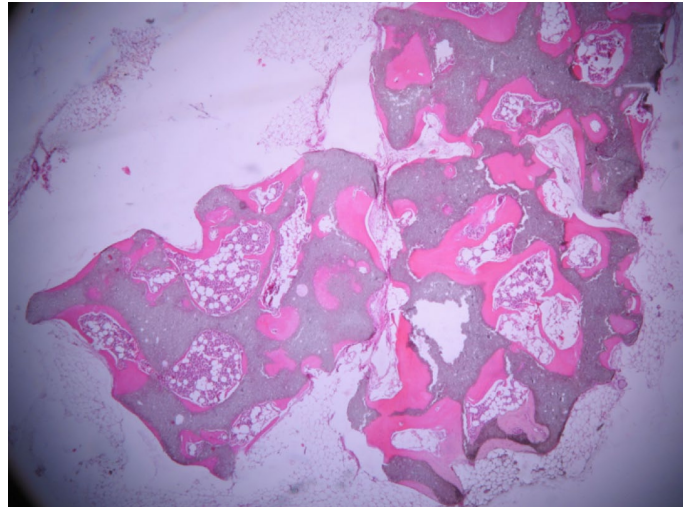






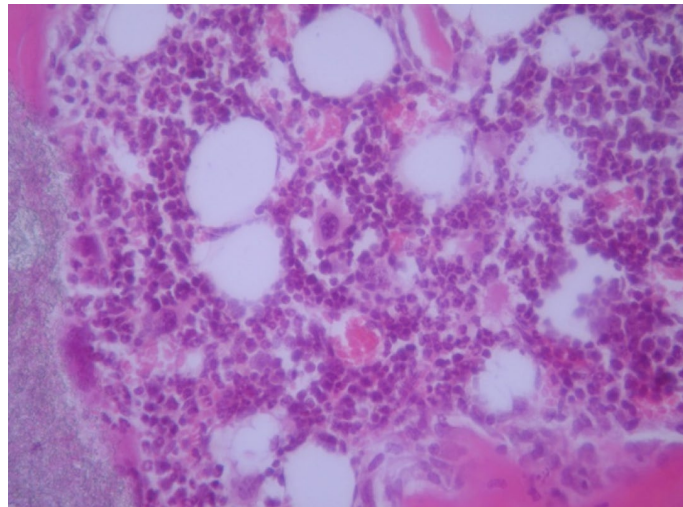
Figuur 2 t/m 10: Vanuit drie sneetjes in het midden op de rug, worden de MSC beladen scaffolds onder de huid geplaatst waar ze minimaal 6 weken blijven zitten. Dan worden er humane cellen (leukemie- of multipel myeloom tumor cellen of normale stamcellen) geïnjecteerd. De uitgroei tot tumoren kan variëren van 2-10 maanden en weerspiegelt daarmee ook het grillige verloop die deze ziekten bij patiënten vertonen.

Na circa 6-8 weken vormt zich op het oppervlak van het scaffold materiaal een laagje humaan bot, met daarop weer een laag humane stromale cellen (die verantwoordelijk zijn voor de aangroei van het bot). Deze cellen gaan daarnaast humane hematopoïetische groeifactoren (eiwitten die bloedcelproductie stimuleren) produceren. In de open structuren in de scaffolds ontwikkelt zich dan een bloedvormend systeem, waarin alle soorten beenmerg/bloedcellen aanwezig zijn (figuur 11 en 12). Dit wordt een hematopoïetische “niche” genoemd en in dit geval met “humane” kenmerken, alhoewel de bloedcellen van muizen origine zijn. De bloedcellen zijn afkomstig van in het bloed circulerende muizen stamcellen die zich in de humane niche vestigen en uitgroeien. Hiermee werd aangetoond dat de gehumaniseerde scaffolds (hu-scaffolds) hematopoïese kunnen ondersteunen. In de wetenschap dat de tumorcellen van patiënten met de ziekte van Kahler (multipel myeloom) zeer sterk afhankelijk zijn van een geschikte “ondersteunende bot omgeving” in het beenmerg, werd de veronderstelling geboren dat de gehumaniseerde scaffolds wel eens heel geschikt zouden kunnen zijn om humane normale en maligne (=kwaadaardige) beenmergstamcellen, in vivo, te laten groeien.



*Figuur 11: Een histologische coupe van een scaffold die circa 8-10 weken na implantatie uit de muis is verwijderd. (HE kleuring; het scaffold materiaal is grijs, het humane bot is roze van kleur).*

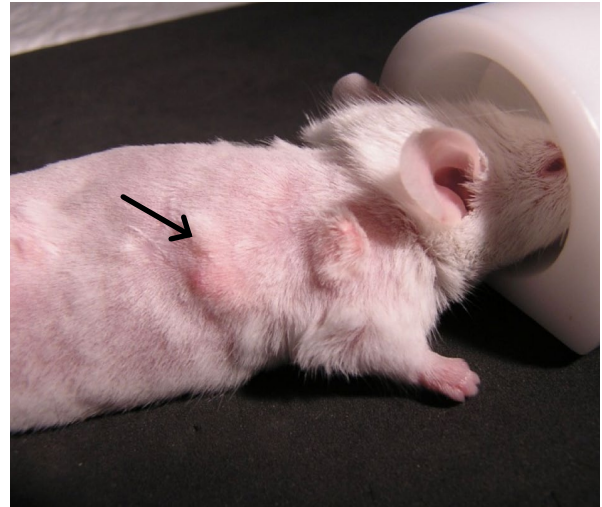
*Figuur 12: Bij hogere vergroting is de grote verscheidenheid aan bloed/beenmergcellen goed te zien.*



### ***Opzet van het onderzoek/Keuze van het diermodel***

Vanaf het begin van de experimenten was het duidelijk dat het “gehumaniseerde” muizenmodel, wetenschappelijk gezien, een groot succes zou kunnen worden. Het inspuiten van normale bloedvormende stamcellen, hetzij in de bloedbaan, hetzij direct in de hu-scaffolds, leidde in een tijdsbestek van enkele maanden tot de uitgroei in de scaffolds, van meerdere typen bloedcellen, vergelijkbaar zoals deze in het beenmerg bij de mens geproduceerd worden. Vervolgens bleek dat de myeloomcellen van Kahler patiënten, zowel na intraveneuze injectie als na injectie rechtstreeks in de hu-scaffolds uitgroeiden tot duidelijk waarneembare tumoren, die honderden miljoenen cellen kunnen bevatten (figuur 13 en 14).

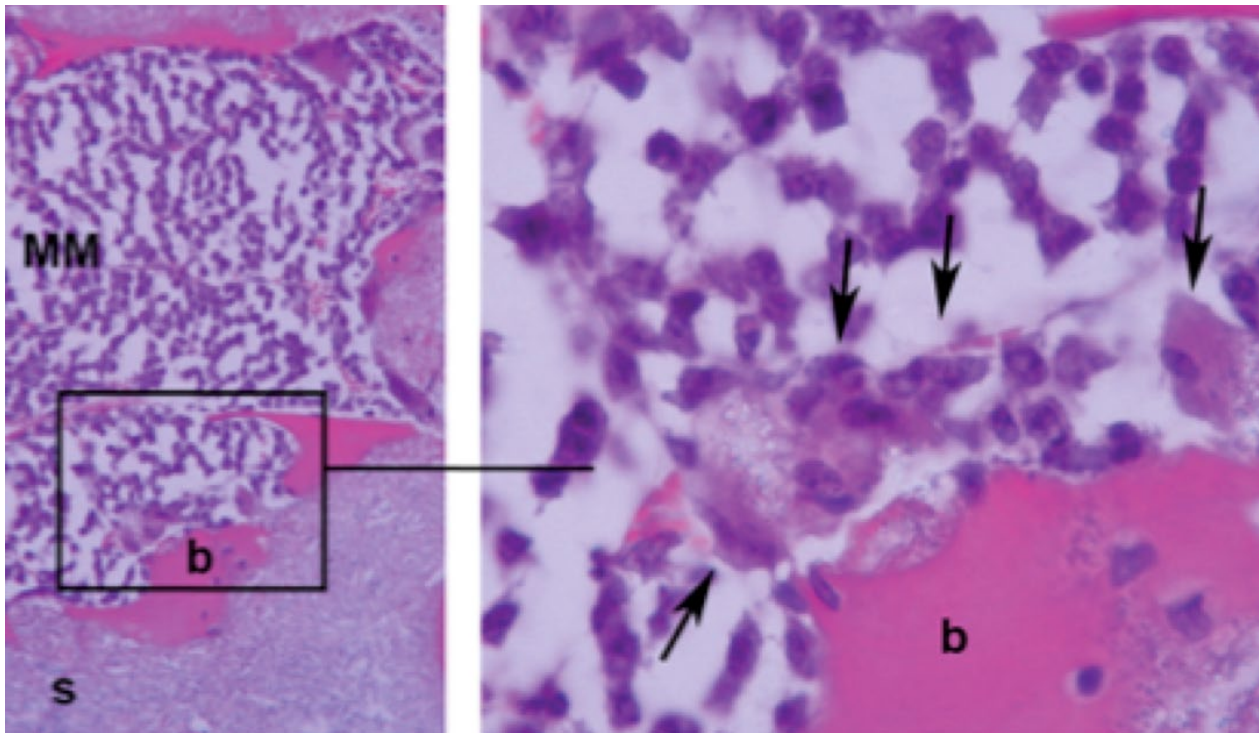
Dit opende een scala van mogelijkheden om onderzoek te doen aan deze, zo moeilijk te behandelen en tot op heden nagenoeg ongeneeslijke ziekte. In de hu-scaffolds werd ook gezien dat er botafbraak plaatsvond op die plaatsen waar de myeloomcellen in contact waren met het bot, iets dat bij Kahler patiënten ook wordt waargenomen en wat de oorzaak is van botpijn, botontkalking (osteolyse) (figuur 15) en soms aanleiding geeft tot botbreuken. Dit biedt o.a. de mogelijkheid om nieuwe medicijnen die de osteolyse zouden kunnen remmen, in het gehumaniseerde diermodel te testen.



***Figuur 13: De onderhuidse tumoren die bij de scaffolds zijn gevormd zijn duidelijk zichtbaar (pijl).***

***Figuur 14: Een macro-opname van een onderhuidse tumor, aan de bovenzijde is het witte scaffoldmateriaal nog goed zichtbaar (pijl).***



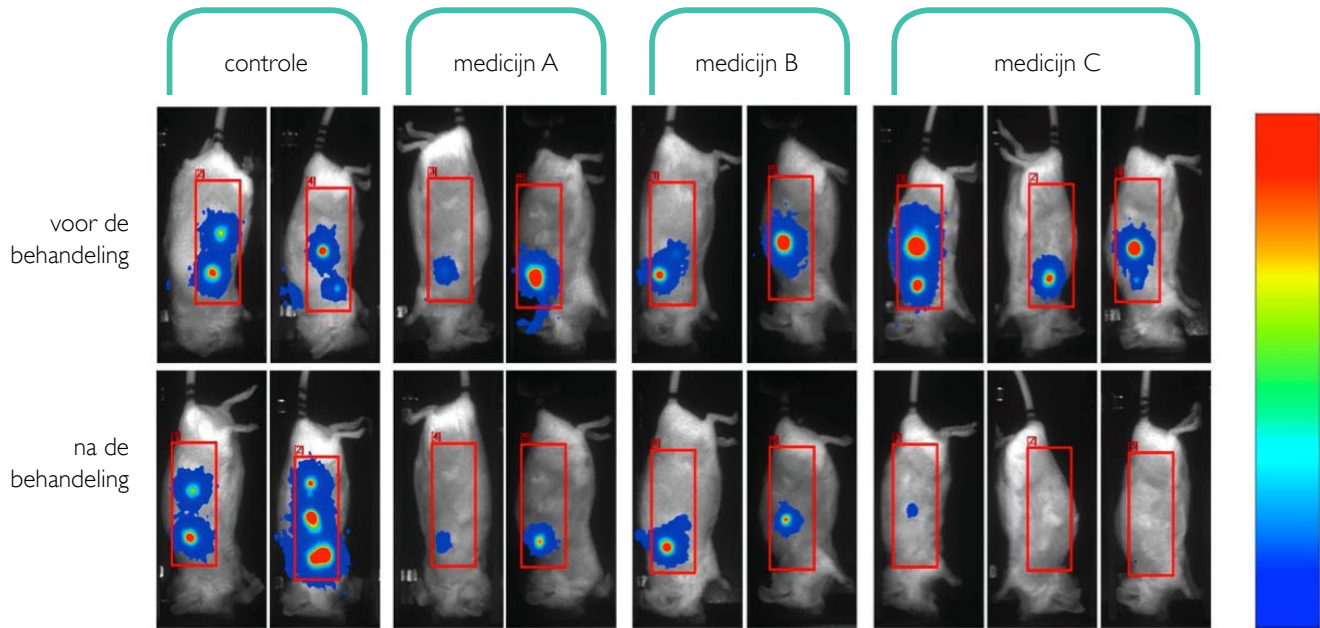


*Figuur 15: Coupe foto, daar waar myeloom cellen contact met bot maken treedt botafbraak (osteolyse) op (zwarte pijlen wijzen naar osteoclasten die daar verantwoordelijk voor zijn).*

### **Wetenschappelijk belang**

De mogelijkheid om patiënten myeloomcellen in een controleerbare en manipuleerbare humane botomgeving in muizen te laten groeien, betekent dat allerlei processen die daar een rol bij spelen, onderzocht kunnen worden, zoals bijvoorbeeld (i) de invloed van lokaal geproduceerde groeifactoren die de groei van de tumorcellen sturen, (ii) de "genetische evolutie" van de tumorencellen, (iii) het testen van nieuwe medicijnen, (iv) het testen van nieuwe vormen van immunotherapie etc. In het afgelopen jaar is bovendien duidelijk geworden dat de gehumaniseerde scaffolds niet alleen multipel myeloom tumorcelgroei ondersteunen, maar eveneens de groei van verscheidende andere vormen van hematologische (= bloed) tumoren (zowel van volwas-

senen als van kinderen afkomstig) en mogelijk ook nog cellen van solide tumoren die, zoals bekend, bij voorkeur naar het bot uitzaaien. Dit is nog in onderzoek. Kortom, de aanwezigheid van een humane botomgeving met daarop een hematopoiese-ondersteunde (stromale) celstructuur maakt het mogelijk om vele vormen van normale en abnormale hematopoiese te onderzoeken. Recent is daar door het toevoegen van endotheel stamcellen de vorming van humane bloedvaten aan toegevoegd, waarmee het scaffold model nog verder gehumaniseerd kon worden. Om deze redenen is het begrijpelijk dat dit gehumaniseerde model momenteel veel aandacht trekt, omdat het ongekende mogelijkheden biedt om allerlei processen te bestuderen waarbij een specifieke inter-



*Figuur 16: In het hu-scaffold model kan chemotherapie resistentie onderzocht worden. Dit zijn de computerbeelden die het speciale imaging apparaat oplevert. Deze figuur toont hu-scaffold muizen waarin multipel myeloom tumorcellen groeien die afkomstig zijn van een patiënt die niet meer op de toegediende chemotherapie reageerde. De intensiteit van de kleur geeft de grootte van de tumoren aan, blauw is kleine tumor, rood betekent grote tumor. De muizen werden behandeld met dezelfde therapie die de patiënt kreeg toegediend. De patiënt was resistent voor medicijn A en B maar reageerde later zeer goed op medicijn C. Dat bleek in de hu-scaffold muizen identiek te zijn. De afname na toediening van medicijn A was minimaal, medicijn B nog minder, maar na toediening van medicijn C waren 2 van de 3 muizen tumorvrij. Het hu-scaffold model biedt dus mogelijkheden om de aard van de resistentie te onderzoeken en nieuwe middelen, waar de patiënt mogelijk wel op zal reageren, te testen.*

actie tussen de humane micro-omgeving en de humane tumor(stam) cellen een belangrijk rol spelen. Dit is het geval bij het ontstaan en verder uitgroeien van leukemie en bij het ontwikkelen van nieuwe medicijnen voor de behandeling van multipel myeloom en leukemie patiënten. Het is ook duidelijk geworden dat de micro-omgeving een zeer bepalende rol speelt bij het ontstaan van verminderde gevoeligheid voor medicijnen en ook daar zal het model naar verwachting zijn nut gaan bewijzen.

#### **Maatschappelijk belang**

Het maatschappelijk belang van dit onderzoek is vooral gelegen in de mogelijkheid die het hu-scaffold model biedt om meer op de leukemie/myeloom patiënt gerichte vraagstellingen te bestuderen. Dat kan zijn het testen van nieuw ontwikkelde chemotherapie of immunotherapie. Ook bij resistentie tegen bestaande middelen, (die in het model vaak even resistent blijken als bij de patiënten (zie figuur 15) kan het model belangrijk zijn om het mechanisme daarachter te bestuderen, en om nieuwe middelen te testen die de resistentie mogelijk doorbreken. De verwachting is dat het gehumaniseerde scaffold model in

belangrijke mate zal bijdragen om de optimale condities te bepalen om deze therapieën met succes bij patiënten te kunnen toepassen.

### **Resultaten**

Het belangrijkste resultaat dat tot op heden met het gehumaniseerde scaffold model is behaald, is het aantonen dat zowel de groei van normale hematopoietische stamcellen bestudeerd kan worden alsmede de groei van vrijwel alle verschillende vormen van bloed/beenmergkanker zoals multipel myeloom (ziekte van Kahler) acute leukemie (zie ook Groen et al., Blood 2012). Een tweede, niet minder belangrijke component in het gehumaniseerde scaffold model is het gebruik van bioluminescentie imaging om zowel de groei als de effecten van de toegepaste therapie kwantitatief te kunnen volgen. Deze methode is gebaseerd op het genetisch markeren van de tumorcellen met het van de vuurvlieg afkomstige gen dat codeert voor luciferase. Als dieren waarin zich tumoren bevinden (die luciferase tot expressie brengen), onder narcose, ingespoten worden met het substraat luciferine dan wordt dit omgezet door het luciferase in de tumorcellen waarbij fotonen vrijkomen (zoals een vuurvliegje licht gaat geven in het donker). Door gebruik te maken van speciale imaging apparatuur (Biospace®) is zowel de locatie als de grootte van een tumor kwantitatief te bepalen. Groei en afname van de myeloom of andere tumoren is niet alleen goed te volgen, maar de methode is zeer gevoelig en is bijvoorbeeld ook geschikt om het uitzaaien van een tumor waar te nemen (ook hele kleine tumoren kunnen gedetecteerd en gemeten worden). Overigens zaaien de myeloomcellen zich in het algemeen alleen uit naar andere hu-scaffolds en groeien

ze vrijwel niet in het muizenbeenmerg of andere organen. De bioluminescentie imaging methode is ook zeer geschikt om bijvoorbeeld waar te nemen dat de cellen van patiënt X ook in de muis resistent zijn voor dezelfde chemotherapie waar de patiënt resistent voor was geworden en zeer gevoelig voor het middel dat bij de patiënten ook effectief bleek (zie figuur 16).

### **Afweging ongerief versus belang**

Bij het gebruik van proefdieren voor biomedisch onderzoek speelt de afweging van ongerief voor het proefdier tegen het wetenschappelijk en maatschappelijk belang een belangrijke rol. Het gehumaniseerde scaffold model biedt niet eerder bestaande mogelijkheden om tumorcellen van patiënten rechtstreeks in een relevante gehumaniseerde omgeving te bestuderen, zowel op groei als op de reactie op chemo-immunotherapie. Dit is van groot belang omdat het in de laatste jaren duidelijk is geworden, dat er een zeer negatieve invloed is van de micro-omgeving, waarin de tumorcellen zich bevinden op het uiteindelijke effect van de gegeven behandeling, hetgeen in belangrijke mate bijdraagt aan het ontstaan van resistentie. De groei van de tumoren in de scaffolds onder de huid veroorzaakt veel minder ongerief dan wanneer de tumorgroei in de interne organen c.q. beenmerg van de muizen zou plaatsvinden. Ook het gebruik van bioluminescentie imaging (onder narcose) om de groei en respons van de tumoren te volgen, is niet bijzonder belastend. Het voornaamste ongerief zal worden veroorzaakt door de (systemische) bijwerkingen van de toegepaste experimentele therapie. Vooral met cytostatica is dat een belangrijk aspect. Echter de middelen die ontwikkeld worden, zijn steeds meer specifiek gericht

op de “biochemie” van de tumorcel of in geval van immunotherapie, meer gericht op specifieke kenmerken van de tumorcellen. Maar het grote belang van het hu-scaffold model is, dat het ingezet kan worden voor bovengenoemde doeleinden bij onderzoek naar ernstige ziektebeelden zoals acute leukemie en multipel myeloom. Deze ziekten treffen vele honderden patiënten (400 nieuwe leukemie patiënten en 750 nieuwe multipel myeloom patiënten per jaar in Nederland) waarvoor tot op heden slechts in beperkte mate (40% bij leukemie), of nauwelijks genezing mogelijk is, zoals bij multipel myeloom. Voor het maken van vorderingen bij de behandelingen van deze ziekten zal het gehumaniseerde scaffold model een belangrijke rol kunnen spelen.

### 3.2.2. Onderzoek naar nieuwe behandelingen voor patiënten met alveesklierkanker

#### **Door:**

Dr. Martijn P.J.K. Lolkema, internist-oncoloog divisie Interne Geneeskunde en Dermatologie, afdeling Medische Oncologie

#### **Achtergrond**

De behandeling van patiënten met kanker is de afgelopen jaren verbeterd. Helaas is dat niet het geval voor patiënten met alveesklierkanker. Deze ziekte heeft nog steeds een hele slechte uitkomst en de behandeling is nog onvoldoende effectief. De oorzaken voor de slechte uitkomsten zijn: 1) de meeste tumoren worden laat ontdekt en zijn moeilijk te opereren en 2) alveesklierkanker cellen zijn weinig gevoelig voor chemotherapie. Tot 80% van de patiënten met deze ziekte overlijdt binnen één jaar na het stellen van de

diagnose en daarmee is er een sterke behoefte aan betere behandelingen.

#### **Doel / hypothese**

Het doel van ons onderzoek is om te testen of er nieuwe behandelmogelijkheden zijn voor patiënten met alveesklierkanker. Daarbij is het belangrijk om te begrijpen waarom nieuwe behandelingen wel of niet werken. Proefdieren zijn bij uitstek geschikt om de verbinding tussen werkzaamheid en mechanisme goed uit te zoeken. Alleen door ons handelen te begrijpen kunnen we sneller nieuwe behandelstrategieën ontwikkelen.

In alveesklierkanker lijkt er sprake te zijn van een sterk samenspel tussen kankercellen en de reactie op de kankercellen door ons eigen lichaam. De reactie van ons lichaam zorgt er in eerste instantie voor dat de tumorcellen niet zo snel groeien maar als de tumor eenmaal zichtbaar is, beschermt deze reactie de tumor cellen tegen invloeden van buitenaf zoals chemotherapie. Wij denken dat we de tumor gevoeliger kunnen maken voor behandeling als we eerst de reactie van de omgeving onderdrukken.

#### **Opzet van het onderzoek**

Wij gebruiken muizen met alveesklierkanker om nieuwe geneesmiddelen te testen. Daarbij testen we de effectiviteit van die geneesmiddelen maar ook welk werkingsmechanisme ze hebben.

#### **Keuze van het diermodel**

Wij gebruiken een muizenmodel voor alveesklierkanker. Dit model vertoont een goede vergelijkbaarheid met de

menselijke variant van alveeskliekkanker. We weten dat in 70-80% van alle menselijke alveeskliektumoren een afwijking in één gen: namelijk het KRAS gen, aanwezig is. Ditzelfde gen hebben we in muizen zo veranderd, dat het in de alveeskliektumoren afwijkend is en daar op eenzelfde manier als bij mensen tumoren veroorzaakt. Belangrijk voor dit onderzoek is dat de tumoren, in deze speciaal voor dit doel gefokte muizen, zich "spontaan" in de alveeskliektumoren ontwikkelen. In veel onderzoek met muizen wordt gebruik gemaakt van "transplantatie" van pancreas tumoren onder de huid, waarmee minder goed het samenspel tussen normaal en tumor weefsel onderzocht kan worden. Voor ons onderzoek is dit model, waarin zowel de tumor als de lichaamseigen reactie goed te onderzoeken zijn, van groot belang.

### ***Wetenschappelijk belang***

Het begrijpen van de effectiviteit van geneesmiddelen is een belangrijke stap naar daadwerkelijke verbetering van de behandeling van patiënten. Onderzoek in dit model heeft al geleid tot een aantal klinische studies bij patiënten met alveeskliekkanker. Daarnaast is het belangrijk om beter te begrijpen waarom sommige geneesmiddelen wel en andere niet werken. Om de stap naar de patiënt te kunnen maken is inzicht in basale vragen over het effect van geneesmiddelen op kankercellen en de omgevingsreactie essentieel.

### ***Maatschappelijk belang***

Allereerst is dit onderzoek bedoeld om direct een belangrijk medisch probleem aan te pakken: alveeskliekkanker. Alveeskliekkanker is een dodelijke ziekte waar geen goede behandeling voor bestaat. Daarnaast draagt dit onder-

zoek bij aan de ontwikkeling van geneesmiddelen die niet alleen voor alveeskliekkanker maar ook voor andere aandoeningen gebruikt kunnen worden. Ten slotte speelt het verkrijgen van kennis over deze ziekte een rol in de manier waarop we naar de ziekte kijken. Vaak zijn begrip en inzicht in ziekte processen belangrijke factoren die bepalen hoe we in de samenleving omgaan met patiënten die deze ziekte hebben.

### ***Resultaten***

De eerste resultaten in Nederland tonen aan dat we met behulp van een nieuwe variant van heparine, een aloude antistollingsmiddel, het samenspel tussen kankercellen en omgevingsreactie kunnen verstoren. We hebben ontdekt dat normaal gesproken kankercellen agressiever gedrag gaan vertonen als ze behandeld worden met chemotherapie en dat we die reactie kunnen remmen met dit nieuwe geneesmiddel. Dit leidt tot een langere overleving en minder agressieve tumorcellen. De relevantie van deze bevindingen wordt nu bij mensen getest in een klinische studie.

### ***Afweging ongerief versus belang***

In dit onderzoek kunnen de proefdieren ongerief ervaren door hun tumor. We proberen zo min mogelijk ongerief te veroorzaken door de muizen goed te monitoren. Het is niet goed te voorspellen wanneer de muizen ziek worden maar we kunnen wel vroeg ontdekken dat er ongerief is. Zodra ongerief geconstateerd wordt, beëindigen we het experiment. Daarnaast doen we veel studies waarbij we op gezette tijden het experiment beëindigen, ruim voor de muizen ongerief van de tumor ervaren. Op deze manier





*Muizen met pancreastumor. De dikkere muis heeft als gevolg hiervan ascites (vocht in de buikholte) ontwikkeld. De tumoren blijven in dit alveeskliermodel (relatief) klein waardoor het ongerief beperkt blijft.*

is het ongerief wat de muizen ondergaan minimaal. Het verminderen van ongerief door goede screening en opzet van studies is de belangrijkste manier om de balans tussen de ongerief en opbrengst te optimaliseren. Het belang van deze studies voor de menselijke alveesklier kankerpatiënten is daarmee in balans met de beperkte belasting van de proefdieren.

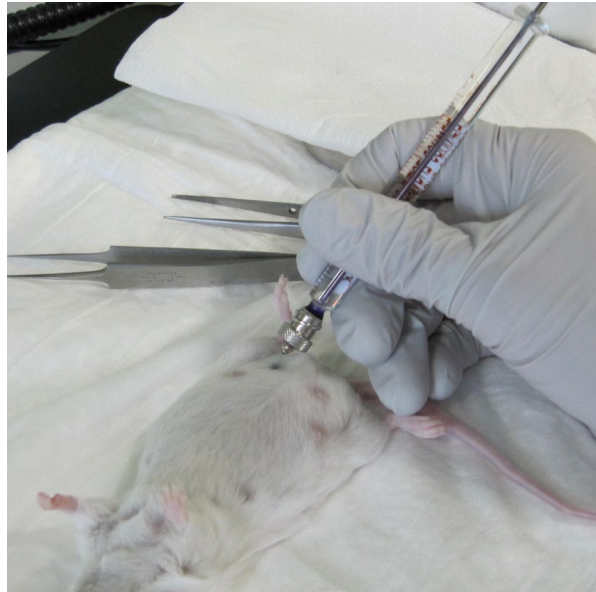
### 3.2.3 Intraductale therapie in de preventie van borstkanker

#### Door:

Drs. Jolien S. de Groot, PhD student divisie Laboratoria en Apotheek, afdeling Pathologie  
Prof. dr. Elske van der Wall, voorzitter UMC Cancer Center, divisie Interne geneeskunde en Dermatologie, afdeling Oncologie  
Prof. dr. Paul J. van Diest, afdelingshoofd divisie Laboratoria en Apotheek, afdeling Pathologie  
Dr. Patrick W.B. Derksen, Associate Professor divisie Laboratoria en Apotheek, afdeling Pathologie

#### Achtergrond

In Nederland ontwikkelt 1 op de 8 vrouwen borstkanker gedurende haar leven. Bij vrouwen met een mutatie in het *BRCA1/2* gen loopt het risico op het krijgen van borstkanker zelfs op tot 80%. De tumoren bij *BRCA1/2* mutatie-draagsters ontstaan vaak op jonge leeftijd en zijn agressief. Op dit moment is de enige mogelijkheid om borstkanker te voorkomen in *BRCA1/2* mutatiedraagsters het preventief verwijderen van beide borsten en eierstokken. Deze preventieve operatie is ingrijpend en leidt helaas niet tot een volledige reductie van het borstkankerrisico. De borst bestaat uit een netwerk van melkgangen (ducten), die uitkomen in de tepel. In verreweg de meeste gevallen ontstaat borstkanker in de melkgangen. Via de openingen in de tepel, is het mogelijk om de melkgangen in de borst te bereiken. Hiermee kan lokaal weefsel worden verkregen om borstkanker op te sporen en is het ook mogelijk om lokaal in het borstweefsel medicatie te geven. Het



*Intraductale injectie bij een muis.*

geven van medicatie in de melkgangen wordt intraductale therapie genoemd. Door het intraductaal geven van medicatie, zoals chemotherapie, zou het wellicht mogelijk worden om de melkgangen zodanig te beschadigen dat er daar geen borstkanker meer kan ontstaan. Daarmee zou een effectieve preventieve therapie voor borstkanker beschikbaar komen.

### ***Doel / hypothese***

Ons onderzoek richt zich op de vraag of intraductale chemotherapie de melkgangen in de borst zodanig kan beschadigen dat het ontstaan van borstkanker voorkomen zou kunnen worden. Daarnaast wordt de veiligheid van intraductale therapie onderzocht.

### ***Opzet van het onderzoek***

Het eerste doel is het bepalen of intraductale chemotherapie de melkgangen zodanig kan beschadigen dat de functie van het borstweefsel verdwijnt in gezonde muizen. Dit wordt onderzocht door na het toedienen van intraductale chemotherapie te bepalen of de melkgangen na de therapie nog kunnen uitgroeien en melk kunnen aanmaken. Het tweede doel gaat een stap verder. Hierin onderzoeken wij of met het verwijderen van de melkgangen kan worden voorkomen dat borstkanker ontstaat. Om het preventieve effect te bepalen wordt gebruik gemaakt van een muismodel dat spontaan borstkanker ontwikkelt. Voordat de tumoren ontstaan wordt intraductale chemotherapie gegeven en de muizen worden vervolgens gecontroleerd op tumorgroei.

Tot slot worden er onderzoeken uitgevoerd naar de veiligheid van intraductale therapie. Om de therapie bij mensen te kunnen gebruiken, is het van groot belang dat de therapie geen nadelige effecten heeft. Zeker omdat het gaat om een therapie die bij in principe gezonde vrouwen als preventie toegediend moet gaan worden. Daarom wordt in gezonde muizen bekeken wat de effecten op lange termijn zijn van intraductale chemotherapie.

### ***Keuze van het diermodel***

Voor het onderzoek naar het preventieve effect van intraductale chemotherapie wordt gebruik gemaakt van een muismodel met een uitschakeling van het *BRCA1* gen. Dit staat model voor de vorm van borstkanker bij vrouwen die drager zijn van de *BRCA1* mutatie en is hiermee een uniek muismodel. Het preventieve effect van intraductale chemotherapie op het ontwikkelen van borstkanker in deze hoog-risico groep kan hiermee goed onderzocht worden. Alle andere onderzoeken worden in gezonde muizen onderzocht met verder een vergelijkbare genetische achtergrond als het muistumormodel, zodat de resultaten onderling vergeleken kunnen worden.

### ***Wetenschappelijk belang***

Met dit onderzoek willen we ons richten op het effect van intraductale therapie op het borstklierweefsel van muizen, die een hoog risico hebben op het ontwikkelen van borsttumoren. Als met intraductale behandeling de tumoren kunnen worden voorkomen en er geen nadelige effecten op lange termijn zijn, kan het dienen als preventieve therapie bij vrouwen met een hoog risico op het ontwikkelen van borstkanker.

### ***Maatschappelijk belang***

Borstkanker is de meest voorkomende vorm van kanker in Nederland. Jaarlijks wordt bij meer dan 13.000 vrouwen en meer dan 100 mannen de diagnose gesteld en per dag overlijden ongeveer 9 vrouwen aan de gevolgen ervan. Een van de belangrijkste risicofactoren is een erfelijke genetische afwijking, namelijk een mutatie in het *BRCA1/2* gen. Het cumulatieve risico op het ontwikkelen van borstkanker

bij BRCA1/2 mutatie draagsters is 28% op de leeftijd van 50 jaar en 84% op de leeftijd van 70 jaar. Deze vrouwen ondergaan regelmatige screening, maar borstkanker wordt hiermee niet altijd tijdig ontdekt. Op dit moment is het verwijderen van beide borsten de meest effectieve manier van primaire preventie, maar de risicoreductie is niet volledig. Intraductale therapie zou een alternatief kunnen zijn voor de preventie van borstkanker bij deze vrouwen.

### **Resultaten**

Het eerste onderzoek kijkt naar het effect van het intraductaal toedienen van chemotherapie bestaande uit cisplatin op de ontwikkeling van een gezonde borstklier. In dit experiment zien we tot nu toe dat de melkklieren na intraductaal cisplatin minder uitgroeien dan na een controle behandeling. Ook zijn de melkklieren na behandeling met intraductaal cisplatin minder goed in staat zich te ontwikkelen tijdens zwangerschap en melk aan te maken. Op de korte termijn is er dus een gunstig lokaal effect van intraductaal cisplatin.

De tweede studie onderzoekt het preventieve effect van intraductaal cisplatin op de tumorfoming in een sporadisch tumormodel met een *Brcal* verlies, het muizenmodel dat model staat voor BRCA mutatie dragers. Dit onderzoek loopt nu, zodat er nog geen resultaten te geven zijn. Ook de studies naar het lange termijn effect zijn nog niet afgerond.

De eerste resultaten zijn dus veelbelovend, maar definitieve conclusies zijn pas te geven nadat alle studies zijn afgerond.

### **Afweging ongerief versus belang**

Borstkanker is een ziekte met een hoge incidentie, morbiditeit en mortaliteit. Vooral vrouwen met een BRCA1/2 mutatie hebben een grote kans op het ontwikkelen van borstkanker. Op dit moment is het op jonge leeftijd verwijderen van de borsten en eierstokken de enige preventieve optie voor deze vrouwen. Deze ingreep geeft echter geen volledige reductie van het risico en heeft grote gevolgen op fysiek en psychosociaal vlak. Het geven van therapie via de tepel zou een alternatief voor deze vrouwen kunnen zijn. Dit is een minder invasieve ingreep, maar moet wel nader onderzocht worden in een diermodel voordat klinische onderzoeken gedaan kunnen worden. Mogelijk ongerief dat de muizen kunnen ervaren tijdens de experimenten zijn de vorming van tumoren en eventuele bijwerkingen door de behandeling met cisplatin. Daarom worden de muizen regelmatig gecontroleerd op tumorgroei en krijgen de muizen extra vocht om bijwerkingen zo veel mogelijk te voorkomen.

De combinatie van de lopende proefdierexperimenten geeft een beeld over de effectiviteit en veiligheid van intraductale chemotherapie als methode van preventie van borstkanker en daarmee weegt het ongerief voor de muizen op tegen het belang van het onderzoek. orstkanker is een ziekte met een hoge incidentie, morbiditeit en mortaliteit. Vooral vrouwen met een BRCA1/2 mutatie hebben een grote kans op het ontwikkelen van borstkanker. Op dit moment is het op jonge leeftijd verwijderen van de borsten en eierstokken de enige preventieve optie voor deze vrouwen. Deze ingreep geeft echter geen volledige reductie van het risico en heeft grote gevolgen op fysiek en psychosociaal vlak. Het geven van therapie via

de tepel zou een alternatief voor deze vrouwen kunnen zijn. Dit is een minder invasieve ingreep, maar moet wel nader onderzocht worden in een diermodel voordat klinische onderzoeken gedaan kunnen worden. De combinatie van de lopende proefdierexperimenten geeft een beeld over de effectiviteit en veiligheid van intraductale chemotherapie als methode van preventie van borstkanker.

### 3.2.4. Radioactieve holmium microsferen voor de behandeling van levertumoren: van academisch concept via dierexperimentele studies naar klinische realiteit

**Door:**

Prof.dr.ir. Wim E. Hennink, professor Pharmaceutics, Faculteit Betawetenschappen, departement Farmaceutische Wetenschappen, afdeling Biofarmacie en Farmaceutische Technologie en Onderzoekinstituut UIPS

Prof.dr. Gert Storm, Professor Biofarmacie/Targeted Nanomedicine, Faculteit Betawetenschappen, departement Farmaceutische Wetenschappen, afdeling Biofarmacie en Farmaceutische Technologie

Ing. Remmert de Roos, researchanalist divisie Beeld, afdeling Nucleaire Geneeskunde

Dr. Gerard C. Krijger, klinisch radiochemicus divisie Beeld, afdeling Nucleaire Geneeskunde

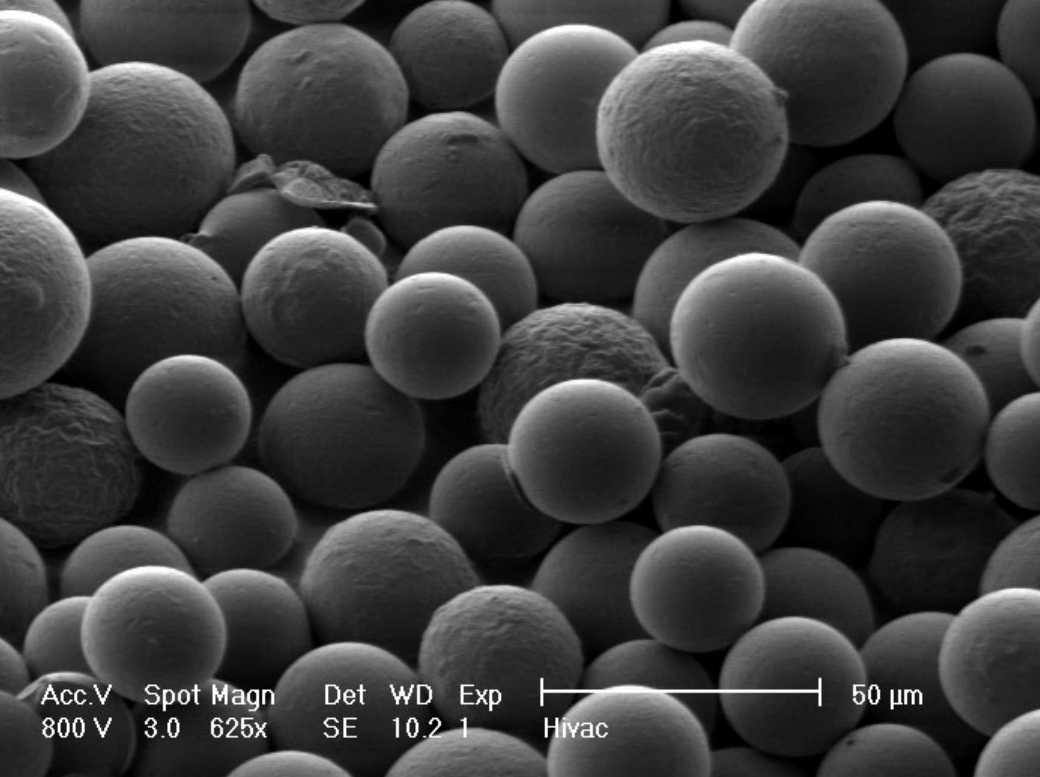
Dr. J. Frank W. Nijsen, Groepsleider diagnostiek en therapeutische farmaceutica en hoofd Holmium Research Group, divisie Beeld, afdeling Radiologie en Nucleaire Geneeskunde

### **Achtergrond**

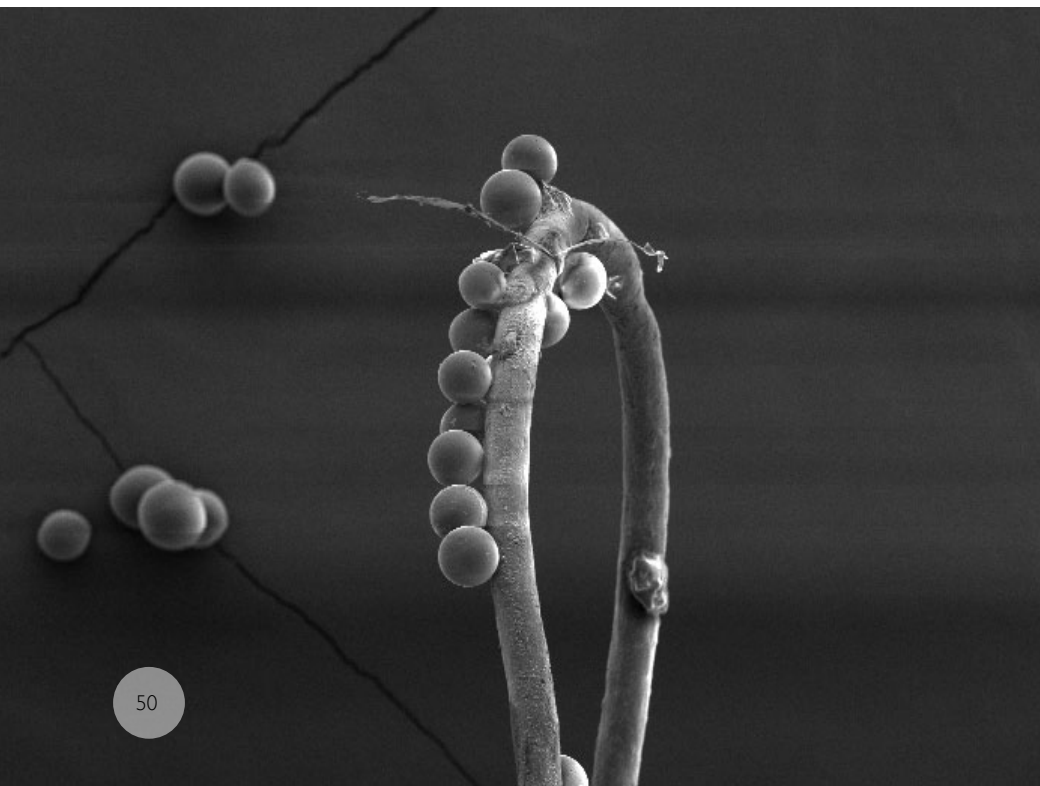
Tumoren in de lever ontstaan in het orgaan zelf of zijn uitzaaiingen van kwaadaardige tumoren buiten de lever. Dit laatste komt het meest voor. In Nederland worden jaarlijks ruim 4000 mensen met levertumoren gediagnosticeerd. Wereldwijd gaat het om meer dan 1,5 miljoen patiënten per jaar. Vaak komen de patiënten pas in een laat stadium bij een medisch specialist terecht, waardoor de levensverwachting minder dan een jaar is. De behandeling van levertumoren is gecompliceerd, omdat opereren meestal niet mogelijk is vanwege het grote aantal tumoren of de moeilijke bereikbaarheid van de tumor in de lever. Chemotherapie is voor een deel van de patiënten effectief maar voor veel patiënten uiteindelijk niet meer.

### **Nieuwe behandeling voor levertumoren**

In het UMC Utrecht zijn, in samenwerking met de afdeling Biofarmacie en Farmaceutische Technologie van de Universiteit Utrecht, radioactieve minuscule holmium bevattende bolletjes ontwikkeld voor de behandeling van tumoren in de lever. Deze bolletjes, microsferen genaamd op basis van hun grootte, hebben een diameter van 30 µm en worden vervaardigd door holmiumacetylacetonaat op te nemen in een matrix van een afbreekbaar polymeer (polymelkzuur). Vervolgens wordt het holmium in de microsferen in een onderzoeksreactor (nucleaire reactor van Delft of Petten) geactiveerd met thermische neutronen (relatief langzame en laag-energetische neutronen). Door het invangen van een neutron wordt stabiel holmium-165 in het radioactieve holmium-166 omgezet. Holmium-166 heeft een halfwaardetijd van 26,8 uur en zendt zowel bèta-



*Microsferen*



*Enkele microsferen op een haar.*

deeltjes als gammastraling uit. De bèta-deeltjes worden gebruikt om de tumorcellen dood te stralen.

De radioactieve holmium microsferen worden via een katheter in de leverslagader gespoten en vervolgens door de bloedflow naar de tumor getransporteerd. Daar lopen de microsferen vast in de kleine bloedvaten om de tumor heen. Vervolgens bestralen de microsferen een aantal dagen de tumor met een vernietigend effect.

De ontwikkeling van deze radioactieve microsferen, en een veilige en effectieve toediening daarvan, heeft ongeveer twee decennia geduurd. Op dit moment wordt de werking ervan uitgebreid in patiënten getest en is het de verwachting dat deze behandeling, welke radioembolisatie wordt genoemd, al binnenkort als standaard therapie bij het UMC Utrecht toegepast zal gaan worden.

#### ***Wetenschappelijk onderzoek naar klinische toepassing***

Om een dergelijke behandeling voor de patiënt toepasbaar te maken is er gedegen onderzoek nodig naar de chemische samenstelling, de farmaceutische productiemethoden, de afbreekbaarheid, bio-compatibiliteit en eventuele toxiciteit van de microsferen. Deze gegevens werden verkregen door laboratoriumonderzoek, zowel in-vitro, als onderzoek in organen en dieren (ex-vivo en in-vivo). Verder is een goede strategische opbouw en planning noodzakelijk om de translatie (= vertaalslag) van pre-klinisch naar klinisch onderzoek te kunnen bewerkstelligen.

Voor de holmium microsferen is er al in een vroeg stadium gekozen voor een bepaalde samenstelling, vorm en grootte. Daarnaast heeft dit soort onderzoek als belangrijk

kenmerk dat de gebruiker, de arts en de patiënt, centraal moeten staan in de ontwikkeling. Daarom heeft er vanaf het prille begin overleg plaatsgevonden met medisch specialisten. Er is naast de farmaceutische ontwikkeling van de holmium microsferen ook uitgebreid stilgestaan bij vragen rond de toediening aan de patiënt: Wat voor toedieningssysteem? Welke formulering? Welke grootte van de microsferen? Enzovoorts.

Daarnaast is er veel aandacht besteed aan veiligheid en mogelijke toxiciteit voor de patiënt evenals de mogelijkheid tot upscaling (schaalvergroting van productie van de bolletjes in relatie tot bestralingsfaciliteiten en aantal behandelingen).

#### ***In-vitro en ex-vivo onderzoek***

Aangezien proefdieronderzoek uitermate tijdrovend en complex is, is er eerst (maar ook tijdens het verdere onderzoek) veel aandacht geweest voor in-vitro en ex-vivo experimenten. Hieruit kon een eerste indruk van veiligheid en bio-compatibiliteit worden vastgesteld. Daarnaast werd er bestudeerd hoe snel de microsferen in fysiologische media afbreken en welke afbraakproducten er mogelijk vrij zouden kunnen komen.

De holmium bolletjes werden aanvankelijk in-vitro gekarakteriseerd en getest in een aantal ex-vivo levers. De levers waren afkomstig van slachtafval of van dieren die waren geëuthanaseerd na afloop van een andere dierproef. Met behulp van de ex-vivo levers van konijnen, varkens en later humane levers (van personen die hun lichaam ter beschikking hadden gesteld voor de wetenschap) kon de biodistributie (= verdeling en transport) van de microsferen in de

lever worden bestudeerd en onderzoek gedaan worden naar beeldvorming en kwantificatie van de holmium microsferen met behulp van nucleaire en magnetische beeldvorming (SPECT en MRI).

### ***Dierexperimenteel onderzoek***

Na deze uitgebreide screening van de microsferen in in-vitro en ex-vivo onderzoek en de keuze voor een microsfeerformulering werd dierexperimenteel onderzoek overwogen. De voorgestelde dierexperimenten moesten antwoord geven op relatief eenvoudige onderzoeksvragen:

- Hoe lang blijft de radioactiviteit na toediening in de lever op zijn plaats en wanneer start de afbraak van de microsfeer?
- Hoe verdelen de microsferen zich in een lever met een tumor?
- Kunnen we de microsferen en/of activiteit van de microsferen kwantificeren in de dieren?
- Wat is de effectiviteit van de radioactieve microsferen op tumoren?
- Hoe moet de toediening plaatsvinden?
- Welke bijwerkingen geeft een behandeling van radioactieve holmium microsferen?

De bio-distributie en de werking op de tumor zijn bij tumormodellen in ratten en konijnen onderzocht. Hiervoor werd eerst een tumorcellijn of stukje tumor in de lever geïmplant. Na twee weken zijn de cellen uitgegroeid tot een kleine met veel bloedvaten omgeven tumor. Ondersteund met beelden van een operatiemicroscoop worden de radioactieve microsferen rechtstreeks in de

leverslagader ingespoten. De bolletjes worden door de bloedflow meegenomen en lopen dan vooral vast in de kleine bloedvaten en capillairen van de tumor. De gehele procedure vindt plaats onder volledige anesthesie en aan het einde van het experiment wordt het dier geëuthanaseerd. Door de radioactiviteit in de organen te meten kan worden achterhaald of er lekkage van microsferen of vrij radioactief holmium vanuit de lever heeft plaatsgevonden. De uitkomsten waren zeer bevredigend en zowel de microsferen als de radioactiviteit accumuleerden vrijwel alleen in de lever.

Van het dier en daarna van de organen zelf werden ook SPECT- en MRI opnamen gemaakt met het doel de verdeling van de microsferen in de lever vast te stellen. Ook werd er hard gewerkt om heel nauwkeurig de exacte hoeveelheden microsferen in het weefsel te kunnen meten met behulp van deze technieken. Uiteindelijk werden histologische analyses op de organen en in het bijzonder op de lever en tumoren uitgevoerd. Hiermee kon op microniveau het vastlopen van de microsferen in de lever en rondom de tumor worden onderzocht.

In een tweede fase 'rond 2000' werden overlevingsexperimenten uitgevoerd in tumor dragende proefdieren. Hier werden voornamelijk konijnen als proefdier gebruikt vanwege hun grootte. Het toedienen van de microsferen ging makkelijker dan bij ratten en de microsferen in de grotere lever van het konijn waren veel duidelijker af te beelden met de beeldvormende technieken. De verdeling van de microsferen werd direct na toediening bestudeerd, maar ook enkele dagen tot weken daarna. Het viel op dat de



konijnen na de toediening van de microsferen minder aten, maar daarvan spoedig herstelden. Met echo werd de groei van de tumor gemonitord, mede om te voorkomen dat de tumoren te groot werden. De geïmplanteerde tumor bleek steeds geheel af te sterven indien er radioactieve microsferen werden geïnjecteerd. Echter zodra microsferen werden geïnjecteerd zonder radioactiviteit werd er geen enkele respons gezien op de tumor.

Inmiddels werd de mogelijke toepassing van deze holmium microsferen voor de behandeling van patiënten met leverkanker en metastasen in de lever steeds tastbaarder. De preklinische resultaten leidden er toe dat in overleg met de medisch specialisten in 2003 een volgende en daarmee finale stap werd gezet voor de translatie naar de patiënt. Er moest worden aangetoond dat het toedienen van de radioactieve holmium microsferen in de lever veilig in de patiënt kan worden uitgevoerd. Om dit aan te tonen werd een varkensmodel geïntroduceerd. Het ging hier om gezonde 70 kg biggen waarbij de toediening zoals die ook in de patiënt voorzien werd, werd onderzocht. Daarnaast werd er een zogenaamde dosisescalatie van de microsferen uitgevoerd. Hierbij wordt in opeenvolgende dierexperimenten de hoeveelheid radioactiviteit steeds verder verhoogd en geëvalueerd of en zo ja, welke bijwerkingen optreden bij welke dosis.

De procedure van toediening en de veiligheid kon efficiënt worden getest en al snel werd een functioneel en veilig toedieningssysteem ontwikkeld, waar de dieren mee behandeld konden worden. Aanvankelijk wilden de dieren na behandeling slecht eten. Echter dit veranderde nadat de

onderzoeker (een dierenarts) was gestart met een “knuffeloffensief” twee weken voor de behandeling. De dieren werden zo enthousiast van het dagelijks knuffelen dat ze zodra ze uit de narcose bijkwamen na behandeling direct de onderzoeker herkenden, hem begroetten en veel sneller begonnen met eten en drinken. Uiteindelijk bleken de dieren vanaf dat moment de behandeling goed te doorstaan en werd waargenomen dat zelfs na twee maanden de bijwerkingen zeer beperkt waren. Het ongemak bij de dieren was dus sterk verminderd.

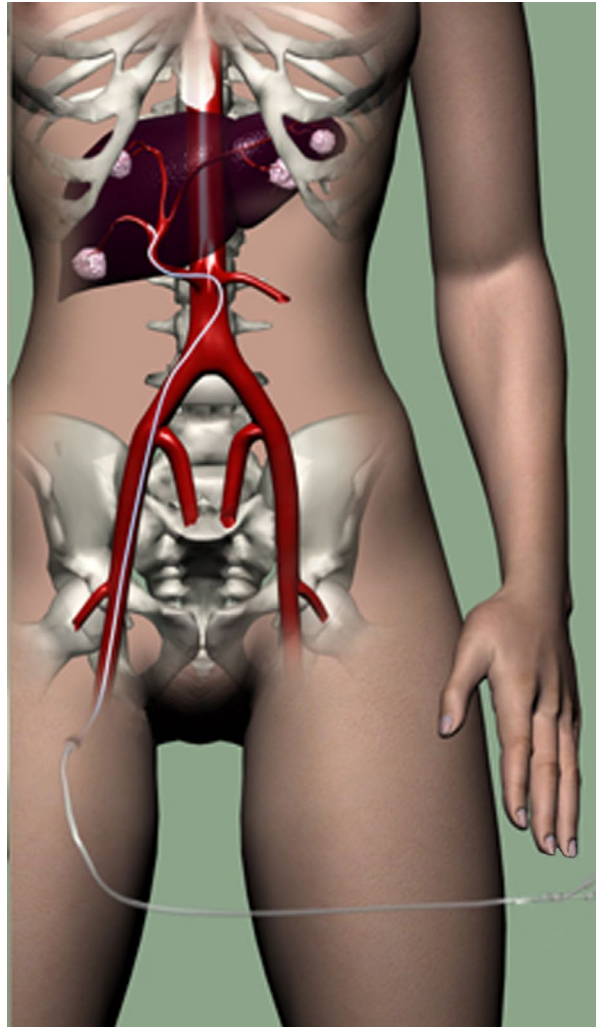
#### ***Klinisch onderzoek in patiënten***

In 2009 werd de stap genomen, op basis van de dierproeven en het uitgebreide in-vitro onderzoek, om uitbehandelde patiënten met uitzaaiingen in de lever te behandelen met radioactieve holmium microsferen. De resultaten van deze eerste studie in de mens zijn inmiddels gepubliceerd in de *Lancet Oncology*, een toonaangevend tijdschrift op het gebied van kankeronderzoek.

Momenteel vindt er een tweede klinische studie plaats naar de effectiviteit van de radioactieve microsferen op de tumoren in patiënten met levertumoren. De verwachting is dat de resultaten dusdanig gunstig zullen zijn dat eind volgend jaar de holmium microsferen ook buiten studieverband, dat wil zeggen voor standaard patiëntbehandelingen, gebruikt mogen worden. Om dit te realiseren wordt er momenteel hard gewerkt aan een CE-registratietraject van de microsferen, waarvoor overigens door de autoriteiten aanvullende dierexperimenten voorgeschreven zijn gericht op de veiligheid van de niet radioactieve microsferen. Op basis van het gehele pakket aan in-vitro experimenten, die

rexperimenten, aanvullende dierexperimenten en klinische studies zal uiteindelijk de CE-registratie moeten plaatsvinden en komt de behandeling hopelijk beschikbaar voor duizenden patiënten binnen Europa.

Zoals beschreven, kan translationeel onderzoek alleen plaatsvinden in een multidisciplinaire onderzoeksgroep waarbij de gebruikers ook meedenken over de ontwikkeling van het geneesmiddel of medisch hulpmiddel. Maar zeker zo belangrijk is de financiering in deze. Hoewel er voor onderzoek, zowel preklinisch als klinisch redelijk veel mogelijkheden zijn voor subsidie is de beschikbaarheid van financiële ondersteuning voor echt translationeel onderzoek nog steeds uiterst beperkt. Het opzetten van een kwaliteitssysteem, het doen van dierstudies vanwege veiligheid, het ontwikkelen van een toedieningssysteem voor humaan gebruik etc., is wetenschappelijk gezien niet echt uitdagend. Hierdoor zijn vaak zowel onderzoekers als subsidiegevers weinig enthousiast. Het werk dat hierboven is beschreven, is gefinancierd met diverse gehonoreerde aanvragen bij de Stichting Technische Wetenschappen (STW) en bij het UMC Utrecht zelf. STW is vrijwel de enige subsidieverstrekker die dit soort translationeel onderzoek financiert.



*Artist impression van de gebruikte techniek.*

Patiënt met borsttumoren behandeld met holmium microsferen.

# Patient breast tumor metastases

FDG-PET/CT

FDG-PET/CT



before treatment

after therapy

6 weeks post therapy

### ***Dierpatiënten en toekomstige intratumorale behandelingen***

Sinds 2006 worden ook nog andere patiënten behandeld. Het gaat hier om dierpatiënten van de Faculteit Diergeneeskunde met oppervlakkige tumoren of tumoren die gemakkelijk met een naald te benaderen zijn. Het betreft hier honden en katten die tumoren in het mondgebied (plaveiselcel carcinoom), op de poot (melanoom, osteosarcoom), op de flank (weke delen tumor) of in het brein (hersentumor) hebben. Ruim 30 dieren zijn met dergelijke tumoren intratumoraal behandeld met radioactieve holmium microsferen, waarbij in ongeveer de helft van de patiënten de behandeling curatief bleek, al dan niet met aanvullende chirurgische verwijdering van kleine tumoren. Deze resultaten zijn uniek omdat andere behandelingen in honden en katten nauwelijks positieve resultaten laten zien. De resultaten in deze dierpatiënten, waarbij de "baasjes" toestemming voor behandeling moeten geven, hebben ertoe geleid dat we ook bij deze indicaties in de toekomst de weg naar behandeling van humane patiënten zullen gaan inslaan.

Het mechanisme, op grond waarvan de behandelingen zo succesvol zijn in deze dierpatiënten, is tot op heden nog onduidelijk. Met een beperkt aantal proefdieren (konijn-tumormodel) willen we nu beter het mechanisme proberen te doorgronden. Dit is zowel nodig om nog effectiever de dierpatiënten te kunnen behandelen, alsmede om de stap te mogen zetten om deze behandelmethode, van het direct in de tumor brengen van radioactieve holmium microsferen, in de toekomst in de mens te mogen uitvoeren.

Een dergelijke ontwikkeling van een nieuwe behandelmethode is niet mogelijk zonder proefdiergebruik. Al is het maar, omdat de autoriteiten geen geneesmiddel of medisch hulpmiddel toelaten zonder dat dit is getest met een aantal standaard dierexperimenten die door speciale instituten werkend onder specifieke kwaliteitssystemen moeten worden uitgevoerd. Echter, door vroeg de juiste keuzes te maken en het middel dat wordt ontwikkeld zeer volledig te karakteriseren, kan met een beperkt aantal dierexperimenten toch genoeg bewijs gevonden worden om de stap naar de patiënt mogelijk te maken.

# 4

## Twee dilemma's in proefdieronderzoek

De DEC wordt bij de ethische beoordeling van voorstellen voor dierexperimenten soms geconfronteerd met aspecten die het maken van een afweging tussen het belang van het onderzoek en het verwachte ongerief bemoeilijken. In dit hoofdstuk worden twee van dergelijke probleemsituaties nader belicht.

Het eerste dilemma is gerelateerd aan de sterke ontwikkeling gedurende de laatste jaren van beeldvormende technieken. Daarbij zijn bestaande technieken geavanceerder geworden, zijn er nieuwe technieken ontwikkeld en zijn verschillende technieken gecombineerd. Dit alles maakt het mogelijk om inwendige processen, zoals bijvoorbeeld het groeien van een tumor, nauwgezet te volgen in de tijd. Voorheen werden voor het bestuderen van dergelijke processen veel dieren ingezet, die op verschillende tijdstippen werden gedood om vervolgens inwendig onderzoek te kunnen verrichten. Tegenwoordig kan met een aanzienlijk kleiner aantal dieren worden volstaan, maar is de consequentie dat deze dieren frequent onder narcose moeten worden gebracht om het inwendige proces met de beeldvormende technieken te kunnen volgen. De kwaliteit van het onderzoek is toegenomen, omdat het inwendige proces in één en hetzelfde dier gevolgd kan worden, maar de keerzijde is dat de dieren meer ongerief ervaren ten gevolge van de herhaalde narcose.

Het tweede dilemma betreft de extrapoleerbaarheid naar de mens van resultaten voortgekomen uit dierexperimenteel onderzoek met muizen.

Het behoeft geen nadere toelichting dat mensen en dieren verschillend zijn. Dat geldt zeker voor het uiterlijk, maar in veel mindere mate voor inwendige processen. Zo kan er

grote gelijkenis bestaan wat betreft specifieke fysiologische of immunologische processen bij de mens en bepaalde diersoorten. Het is echter de vraag of de muis, nog altijd verreweg de meest gebruikte proefdiersoort, wel altijd geschikt is om te dienen als model voor de mens.

### 4.1. Dilemma I: Beeldvormende technieken in onderzoek: minder dieren nodig maar meer ongerief voor het individu?

#### Voorbeeld A: Muismodel

**Door:**

Dr.ir. Erwin L.A. Blezer, onderzoeker divisie Beeld, afdeling Beeldverwerking

Prof.dr.ir. Freek J. Beekman, CEO/CSO MILabs B.V., divisie Hersenen, afdeling Neurowetenschappen en Farmacologie

Dr. Rick M. Dijkhuizen, sr. onderzoeker divisie Beeld, afdeling Medische Beeldvorming en Beeldverwerking

Dr. J. Frank W. Nijsen, Groepsleider diagnostiek en therapeutische farmaceutica en hoofd Holmium Research Group, divisie Beeld, afdeling Radiologie en Nucleaire Geneeskunde

Dr. Clemens Bos, sr. onderzoeker divisie Beeld, afdeling Researchgroep Beeldgestuurde Moleculaire Interventie

### **Achtergrond**

Om veelbelovende therapieën tegen kanker te testen zijn diermodellen essentieel. Muizen spelen hierin een belangrijke rol, onder meer omdat het mogelijk is behandeling van menselijke kanker te onderzoeken door in muizen met verzwakt immuunsysteem onderhuids humane tumorcellen te laten uitgroeien tot kleine tumoren. Recente veelbelovende therapieën in kankerbestrijding richten zich op de (de-)activatie van tumor-specifieke receptoren d.m.v. antilichamen. Voor een verdere optimalisatie van deze therapieën is het belangrijk om de distributie van de antilichamen te bestuderen, het liefst in het levende dier. Centrale vraagstellingen zijn bijvoorbeeld 1) komt het antilichaam wel in de tumor en 2) worden alle essentiële gebieden in de tumor wel bereikt. Het laatste is van doorslaggevend belang. Het zichtbaar maken van de antilichaam distributie door de tumor, de centrale vraagstelling van dit onderzoek, is uitdagend omdat de tumoren heel erg klein zijn. MRI en CT zijn beeldvormende technieken waarmee beelden kunnen worden gemaakt waarop tienden van millimeters te zien zijn. Dit heet een hoog oplossend vermogen. Echter, deze technieken zijn minder geschikt om de verdeling van antilichamen zichtbaar te maken. Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) is een beeldvormende techniek die wel de distributie van (radioactief gelabelde) moleculen zichtbaar kan maken, maar niet goed genoeg, omdat het oplossend vermogen (enkele millimeters) van deze apparatuur nog te laag is. Recentelijk heeft MILabs SPECT- apparatuur ontwikkeld (U-SPECT systemen) die gebruik maakt van het zogenaamde "multi-pinhole" collimator principe. Hiermee kunnen beelden worden gemaakt

die het goede van beide apparaten combineren: een oplossend vermogen dat bijna net zo goed is als in een MRI en een goede detectiegevoeligheid voor antilichamen.

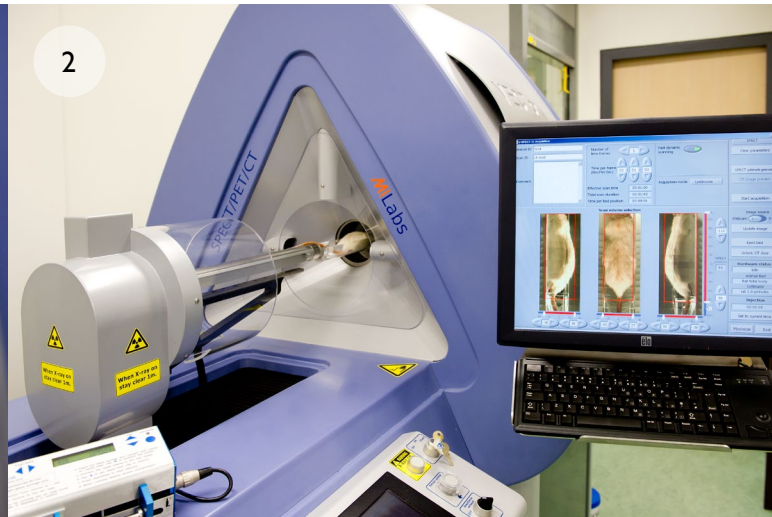
### **Doel / hypothese**

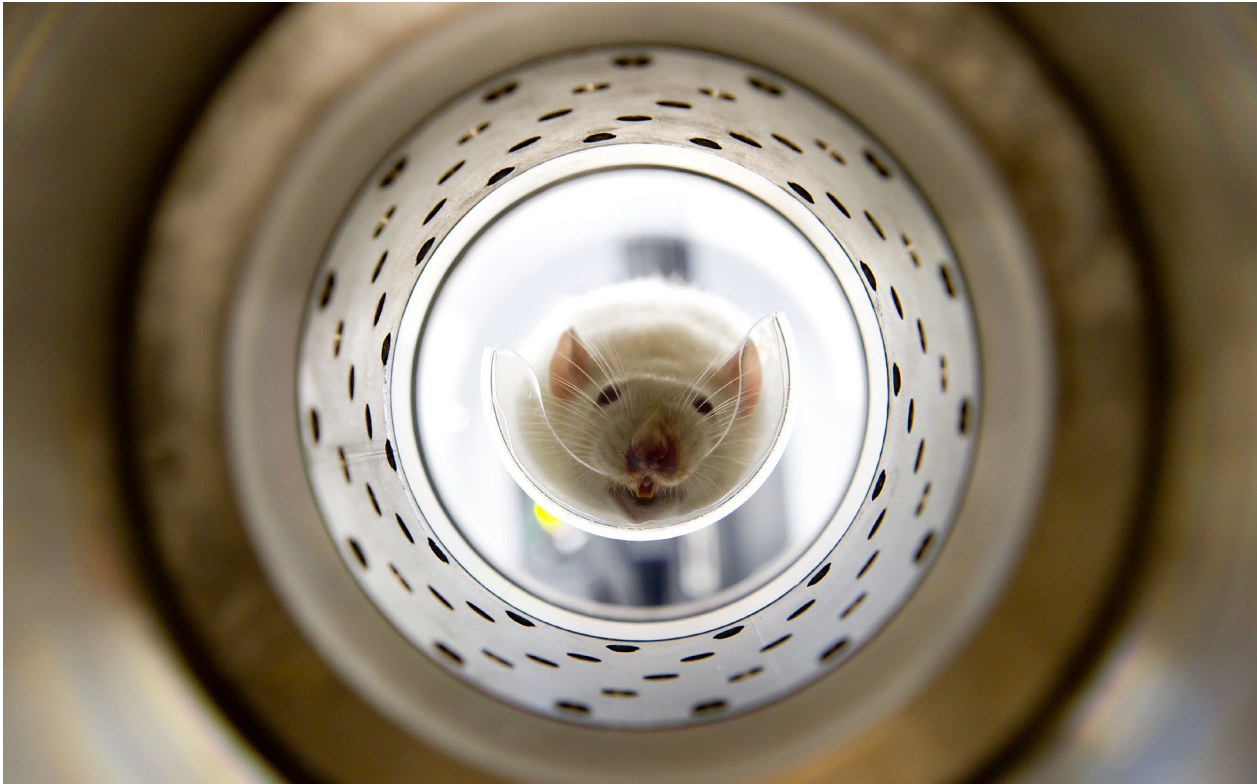
Het doel is te analyseren of U-SPECT in staat is om de verdeling van gelabelde antilichamen in tumoren te visualiseren. Daarvoor is onderzocht of de intra-tumorale distributie van het antilichaam op het SPECT beeld overeenkomt met de histologische verdeling van de receptor waarop het aangrijpt. Met andere woorden, er wordt gekeken of het beeld overeenkomt met de werkelijkheid na sectie op het dier.

### **Opzet van het onderzoek**

Er wordt gebruik gemaakt van een muizen model met humane tumoren die een verhoogde expressie hebben van de "epidermal growth factor" receptor (EGFr). EGFr speelt een centrale rol in de tumorgroei en in klinisch onderzoek is aangetoond dat blokkade van EGFr een anti-tumor groeiend effect heeft. Dieren worden onder narcose gebracht en krijgen veneus een Indium 111 gelabeld antilichaam toegediend. Tot twee dagen daarna wordt de procedure enkele malen herhaald en wordt gekeken naar de ruimtelijke verdeling van het antilichaam in de muis en meer specifiek binnen de tumor. Vervolgens worden de dieren gedood en wordt tumorweefsel geanalyseerd

*Fotoserie rechts: MILabs' simultane U-SPECT scanner (de VECTor) voor preklinisch oncologie-, cardiovasculair-, of neurologie-onderzoek. De rat is onder anesthesie gebracht voor de U-SPECT scan start.*





*Een rat onder anesthesie tijdens een 3D brein opname in de MLLabs' U-SPECT scanner. Duidelijk zichtbaar zijn de ringen van pinholes in de collimator die het systeem uniek maken.*

om vast te stellen of de verdeling van het radioactieve antilichaam in de tumor overeenkomt met de verdeling van EGFr:

#### ***Keuze van het diermodel***

Muizen spelen een centrale rol in het onderzoek naar kanker. Muizen die EGFr tot expressie brengen in tumoren worden vaak gebruikt voor kankeronderzoek.

#### ***Wetenschappelijk belang***

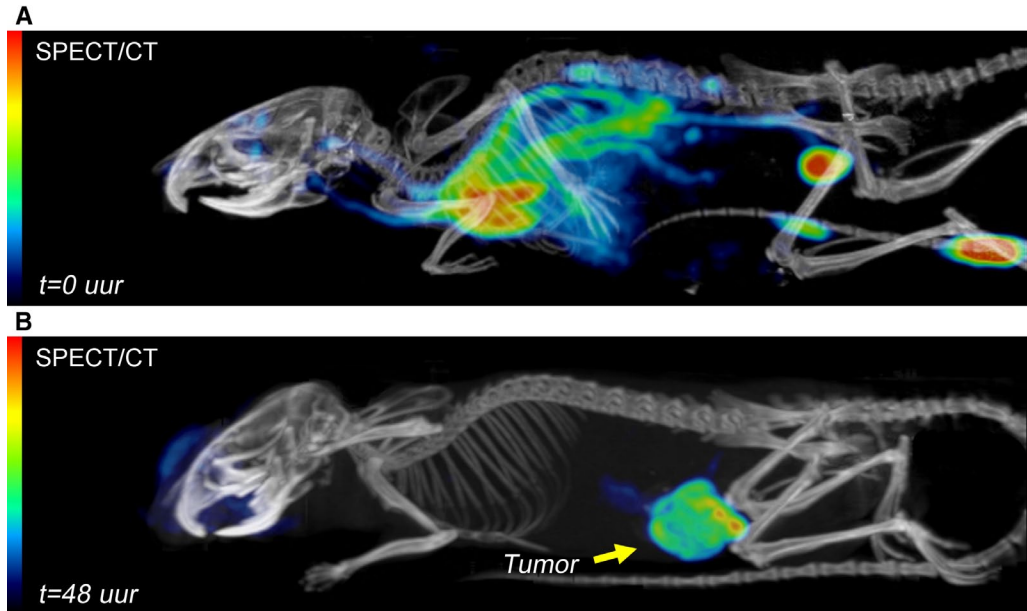
Het kunnen visualiseren van tumor remmende antilichamen in levende dieren is belangrijk, omdat er op deze manier "tools" beschikbaar komen om de werking van deze antilichamen te verbeteren. De opname van het antili-

chaam door de tumor is een belangrijke parameter om de werking van het antilichaam te karakteriseren.

#### ***Maatschappelijk belang***

Kanker is volksziekte nummer 1. Onderzoek dat bijdraagt aan de genezing van deze ziekte is daarom belangrijk. Er zijn veelbelovende antilichamen beschikbaar, maar we moeten meer van ze weten om ze optimaal tegen kanker in te kunnen zetten. Door de distributie in vivo (in het levende dier) in de tijd te volgen kunnen verder ook veel proefdieren worden gespaard.

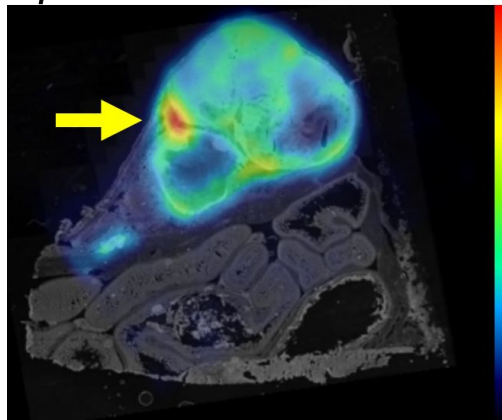




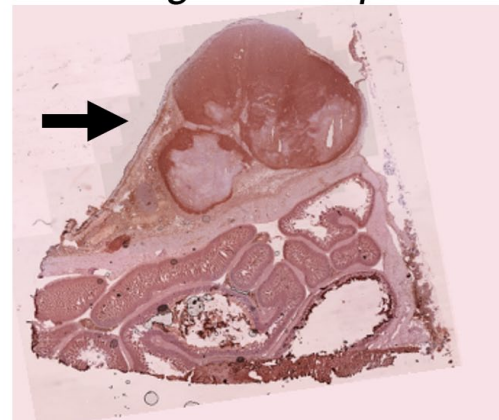
Verdeling van het Indium 111 gelabelde antilichaam meteen en 48 uur na toediening.

De verdeling van het gelabeld antilichaam (SPECT image links) komt goed overeen met de verdeling van EGFr (histologie rechts; donkere aankleuring in tumor). Er is echter ook een "hotspot" te zien (pijltjes) die het gevolg is van opname van Indium 111 door macrofagen.

### Spect: Antilichaam



### Histologie: Receptor



### **Resultaten**

Meteen na toediening van het gelabelde antilichaam verdeelt het zich initieel in het bloed waarna het zich vervolgens binnen twee dagen voornamelijk ophoopt in de tumor.

De intra-tumorale verdeling van het antilichaam komt goed overeen met de verdeling van de receptor waar het antilichaam op aangrijpt.

We concluderen dat SPECT beelden representatief zijn voor de verdeling van EGFr. Door de beschikbaarheid van de hoge resolutie beelden hebben onderzoekers nu de mogelijkheid om de werking van veelbelovende therapieën te verbeteren met een beperkt aantal proefdieren.

### **Afweging ongerief versus belang**

Door de temporele distributie in vivo te volgen, kan het aantal proefdieren worden verminderd. Zonder de beeldvormende technieken zouden meer dieren in verschillende stadia na toediening gedood moeten worden om in de tijd te kunnen kijken en volgen hoe het antilichaam zich verdeelt. Door deze benadering kan het proces binnen hetzelfde dier gevolgd worden, hetgeen de kwaliteit van het onderzoek bevordert. Nadeel is dat de dieren meer ongerief ondervinden vanwege het feit dat ze regelmatig onder narcose moeten worden gebracht ten behoeve van de imaging. Veelvuldig gebruik van SPECT kan het proefdiergebruik mogelijk ook verfijnen, omdat preciezer is vast te stellen op welk moment het antilichaam zich goed in de tumor heeft verzameld, waardoor het moment van euthanasie preciezer gekozen kan worden, zodat het dier mogelijk ongerief door tumorgroei wordt bespaard.

De tumorgroei zorgt voor matig ongerief bij de dieren. Echter dit ongerief weegt op tegen het maatschappelijk belang, omdat door middel van de ontwikkelde visualisatie techniek de werkzaamheid van anti-kankertherapieën kan worden verbeterd.

### **VOORBEELD B: varkensmodel**

Door: Dr. Clemens Bos, sr. onderzoeker divisie Beeld, afdeling Researchgroep Beeldgestuurde Moleculaire Interventie

### **Achtergrond**

Magnetic resonance-guided high intensity focused ultrasound (MR-HIFU) is een techniek waarmee zonder te snijden een tumor weggebrand (dit heet ablatie) kan worden. MR-HIFU wordt al toegepast voor de behandeling van vleesbomen (goedaardige gezwellen) in de baarmoeder. Ook voor patiënten met levertumoren kan MR-HIFU een aantrekkelijke optie zijn, omdat het veel minder belastend is dan een operatie. Daarnaast is het een behandeling die mogelijk geschikt is voor patiënten met levertumoren die niet in aanmerking komen voor een operatie. Het gereedschap voor de behandeling, Figuur 1, bestaat uit een ultrageluidsbron met hoog vermogen, de "transducer", die de energie van de geluidsgolven precies in een punt bijeen laat komen, zodat het weefsel heel lokaal verhit wordt. Dit is te vergelijken met het bundelen van zonnestralen met een vergrootglas om zo iets te verbranden. De behandeling vindt plaats in een MRI. Hier kunnen afbeeldingen van de tumor worden gemaakt, waarop onder andere de arts aan kan geven welk weefsel verhit moet worden,



*Figuur 1 - HIFU systeem (links), met foto van HIFU tafel (rechts). De transducer bevindt zich in een waterbad met daaroverheen een ultrageluid doorlatend membraan. De patiënt wordt met de te behandelen tumor recht boven de transducer geplaatst.*

en waarmee de opwarming van het weefsel gemeten kan worden terwijl de ultrageluidsbron aanstaat.

### ***Doel / hypothese***

In deze studie wordt onderzocht of de nieuwe MR-HIFU-apparatuur veilig en effectief gebruikt kan worden voor ablatie in de lever. Daarnaast wordt een aantal nieuwe technieken getest, met name voor correctie voor bewegingen van de lever ten gevolge van de ademhaling en voor verhitten tussen de ribben door. Hoewel de effectiviteit van MR-HIFU voor tumorablatie is aangetoond, is dit nieuwe, voor leverbehandeling ontworpen systeem nog niet getest voor ablatie in de lever. Dit is wel noodzakelijk voordat de eerste patiënten hiermee behandeld kunnen worden. Behalve voor testen van het bestaande systeem, worden de proefdieren ook ingezet voor verdere ontwikkeling van de techniek, zodanig dat dit niet ten koste gaat van extra dieren.

### ***Opzet van het onderzoek***

Bij het onderzoek wordt, onder MRI-geleide, in elk dier op een aantal plaatsen in de lever weefsel weggebrand. Dit gebeurt terwijl het dier onder narcose is (vergelijkbare narcose als bij mensen tijdens een operatie). Na afloop van de behandeling wordt het varken geëuthanaseerd, de lever uitgenomen en worden de resultaten nauwkeurig geanalyseerd en gecorreleerd aan de MRI-data van tijdens en kort na de MR-HIFU-behandeling. Zo is de effectiviteit en betrouwbaarheid van de behandeling te beoordelen.

### ***Keuze van het diermodel***

Voor deze studie maken we gebruik van varkens, omdat hun anatomische verhoudingen sterk overeenkomen met die van de mens. Kleinere dieren zijn niet geschikt omdat het MR-HIFU-systeem ontworpen is voor ablatie in de menselijke lever. Bij gebruik bij kleinere dieren zouden de resultaten dus niet voldoende representatief zijn, en bovendien zou de kans op onacceptabele schade aan vitale organen onacceptabel groot worden.

### ***Wetenschappelijk belang***

De data die deze studie oplevert zijn noodzakelijk bij het ontwerpen en aanvragen van de eerste studie bij levertumorpatiënten. De experimenten zullen bovendien informatie opleveren voor de verdere ontwikkeling van geavanceerde ablatietechnieken. In de lever zijn verschillende aspecten van de MR-HIFU techniek van bijzonder belang. We noemden al de beweging van de lever door ademhaling en het afschermen van de lever door de ribbenkast. De ribben absorberen namelijk een groot gedeelte van de energie van de geluidsgolven die ze treffen, en reduceren zo het vermogen dat beschikbaar is voor verhitting van het weefsel erachter. Verder moet er rekening gehouden worden met de hoge weefselperfusie in de lever, die ervoor zorgt dat het bloed de warmte als het ware afvoert. De invloed van deze factoren werd reeds gesimuleerd met computermodellen en getest op fantomen bij het ontwerpen van dit systeem. Op basis hiervan zijn de eigenschappen van de transducer (is het instrument dat voor de ablatie wordt gebruikt) aangepast. Deze computermodellen kunnen echter niet de complexe weefselstructuren en perfusie-eigenschappen

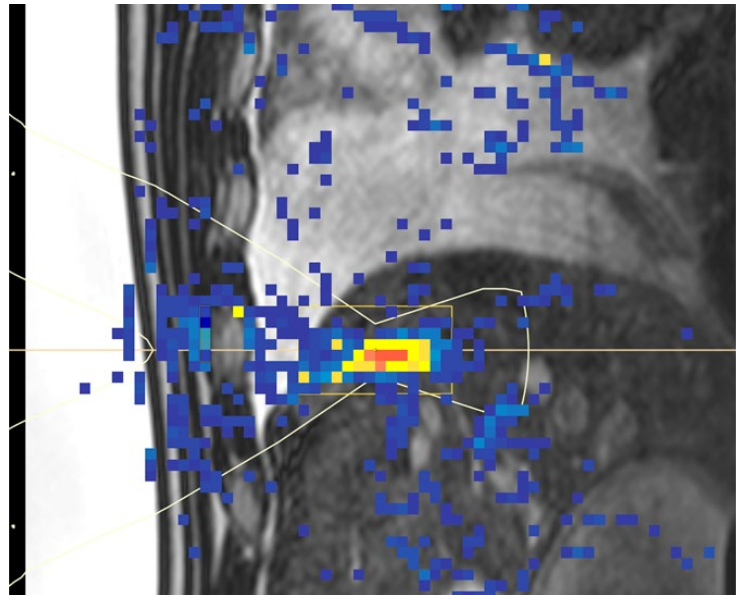
in menselijk weefsel precies nabootsen. De ervaring leert dan ook dat het focuspunt of de temperatuurmeting in vivo (in levende dieren) soms onverwacht gedrag vertoont. Het is uiteraard erg belangrijk dat de voorspellingen van deze simulaties en de effectiviteit van de gehele MR-HIFU-keten in vivo gevalideerd worden, zodat eventueel noodzakelijke correcties kunnen worden doorgevoerd. Dit voorkomt zo veel mogelijk dat er onverwachte (of onveilige) situaties optreden tijdens de eerste patiënten studies.

#### **Maatschappelijk belang**

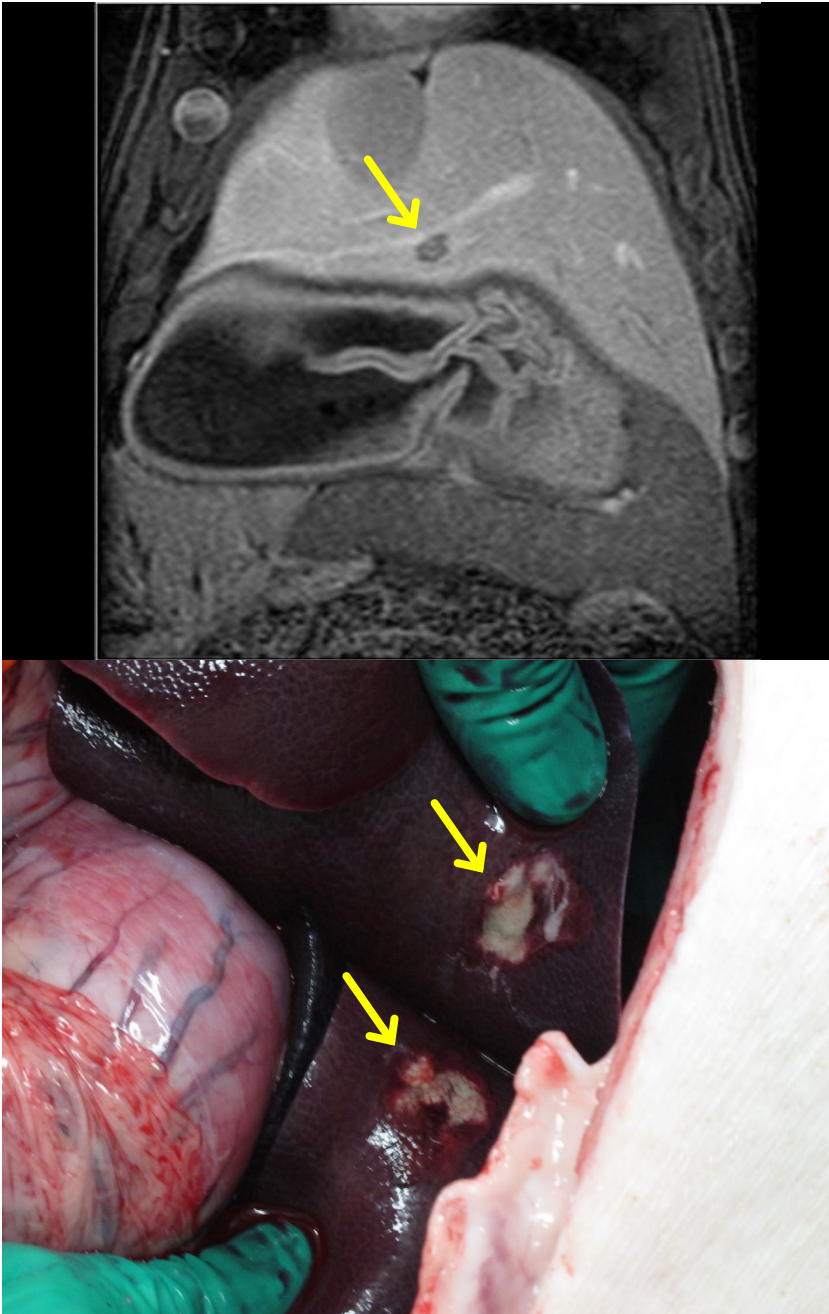
MR-HIFU is een volledig non-invasieve behandeling voor patiënten met (lever-)tumoren. Dit betekent dat een tumor vernietigd kan worden zonder dat hiervoor een operatie nodig is. Het heeft de potentie om levensverlenging of verbetering van kwaliteit van leven te bieden aan leverkankerpatiënten. Dit is medisch, ethisch en financieel gezien aantrekkelijker dan een operatie. Daarnaast kan deze behandeling geschikt zijn voor bepaalde patiëntengroepen die niet in aanmerking komen voor een operatie.

#### **Resultaten**

Het onderzoek loopt nog volop, maar heeft in de korte tijd al veel inzicht gebracht in de haalbaarheid van de behandeling van levertumoren met HIFU. Het is goed mogelijk om de verhitting van het weefsel af te beelden met MR



*Figuur 2: Thermometrie op MR-HIFU console, met een zij aanzicht van de lever. Hierop wordt in kleur de met MRI gemeten temperatuur weergegeven. De temperatuur wordt gecontroleerd verhoogd totdat de 60°C is overschreden (oranje en rood).*



*Figuur 3:  
Ablatie van lever weefsel.  
Waar leverweefsel succesvol  
weggebrand is stopt de perfusie,  
resultierend in een donkere plek op  
MR (pijl, foto boven). Bij sectie zijn de  
laesies zichtbaar als lichte vlekken  
(foto onder).*

thermometrie, zie Figuur 2. Het afkoelende effect van de weefselperfusie is duidelijk merkbaar in het vermogen dat nodig is om voldoende te verwarmen. Succesvolle ablatie van lever weefsel is zichtbaar op MR als een stuk weefsel, dat niet langer doorbloed is en geen contrastmiddel meer opneemt. Bij dissectie zijn de leasies te zien als lichte plekken in verder donkerrood lever weefsel, Figuur 3.

#### ***Afweging ongerief versus belang***

Deze dierstudie is een noodzakelijke stap voordat MR-HIFU-ablatie bij patiënten uitgevoerd kan worden, een behandeling die de potentie heeft levensverlenging of verbetering van leven te bieden aan patiënten met kanker in de lever. Hoewel er zoveel mogelijk gebruik gemaakt wordt van computersimulaties en proefopstellingen, is de complexiteit van een levend dier/mens met ademhaling, weefselperfusie, stofwisseling en dergelijke nooit voldoende betrouwbaar na te bootsen. Daarom zijn deze dierexperimenten nodig om er zo veel mogelijk zeker van te zijn dat deze techniek veilig en betrouwbaar is voor behandeling van mensen. Daarnaast vinden de experimenten plaats onder algehele narcose, waardoor het ongerief voor de dieren gering is. Het belang van de ontwikkeling van deze nieuwe, veelbelovende behandeling wordt daarom belangrijker geacht dan het ongerief van de dieren in deze studie.

## **4.2 Dilemma 2: kankermodellen in muizen: zinvol?**

#### ***Door:***

Dr. Onno Kranenburg, Associate Professor Surgical  
Oncology divisie Heelkundige Specialismen, afdeling  
Heelkunde  
Dr. Frans R. Stafleu, Universitair docent van het Ethiek  
Instituut, Universiteit Utrecht

#### ***De ontwikkeling van translationeel kankeronderzoek***

Het doel van translationeel kankeronderzoek is om de kennis, die verkregen is met basaal onderzoek, te vertalen naar nieuwe toepassingen voor diagnostiek en/of behandeling van kanker, maar ook om klinische gegevens weer terug te vertalen naar wetenschappelijke vraagstellingen. Dit type onderzoek kan alleen goed worden vormgegeven, wanneer de wegen van kankeronderzoekers en -behandelaars elkaar kruisen en dat is, zelfs in de academische centra, niet altijd vanzelfsprekend. Een goed contact tussen de expertises van zowel clinici, als onderzoekers is essentieel. Alleen dan kan echte vooruitgang geboekt worden. Verschillende internationale organisaties die kankeronderzoek ondersteunen, hebben in de afgelopen jaren initiatieven ontplooid om de kloof tussen basaal onderzoek en klinische toepassing te verkleinen<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> De Amerikaanse organisatie voor kankeronderzoek (AACR) organiseert sinds 2005 gespecialiseerde congressen met het thema 'Translational Cancer Medicine', het Britse Cancer Research UK reikt sinds 2010 een jaarlijkse 'Translational Cancer Research Prize' uit, en het Nederlandse Koningin Wilhelmina Fonds (KWF) financiert al sinds 2008 onderzoeksprojecten met een specifiek translationeel karakter.

Waar kan translationeel onderzoek in de kliniek toe leiden? Het meest tastbare resultaat van het afgelopen decennium is de ontwikkeling en klinische toepassing van een enorm scala aan nieuwe anti-tumor middelen, die gericht zijn tegen specifieke tumor moleculen. Dit wordt 'targeted therapie' genoemd. Een bekend voorbeeld is de ontwikkeling en succesvolle klinische toepassing van Herceptin, een antilichaam dat het Her2 eiwit neutraliseert dat de groei van sommige borsttumoren stimuleert. Een ander succesverhaal is de behandeling van chronische myeloïde leukemie (CML) met Imatinib, een remmer van het kanker-specifieke Bcr-Abl eiwit. Naast de zoektocht naar en het testen van nieuwe medicijnen, wordt er ook continu gezocht naar nieuwe 'biomarkers' die de aanwezigheid van een tumor, het gedrag van die tumor, en de respons op therapie kunnen voorspellen.

### ***Proefdieren en dierproeven in kankeronderzoek***

Om tumorgroei en uitzaaiingen zoals dat optreedt in kankerpatiënten zo goed mogelijk na te bootsen, wordt veel gebruikt gemaakt van proefdieren, meestal muizen. Dierproeven in kankeronderzoek zijn voor het overgrote deel gericht op het ontrafelen van de mechanismen die ten grondslag liggen aan het ontstaan van kanker (of uitzaaiingen), op het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen, en op het testen van nieuwe (combinatie-) therapieën. Een belangrijke vraag uit ethisch oogpunt is in hoeverre dierproeven daadwerkelijk bijdragen aan het verbeteren van de behandeling van kankerpatiënten.

### ***Reflectie: het moet beter***

Hoewel translationeel kankeronderzoek wel degelijk succesverhalen kent, is toch de heersende gedachte dat de klinische impact tot nu toe teleurstellend geweest is. Blijkbaar hebben de meeste gebruikte modellen niet voldoende voorspellende waarde. Hier is een aantal aanwijsbare redenen voor:

Ten eerste wordt de basis van het overgrote gedeelte van de tumor modellen gevormd door cellijnen die gemaakt zijn van patiënt-tumoren. Een verzameling van veelgebruikte tumorcellijnen is bijvoorbeeld het 'NCI60 panel', dat gebruikt is in meer dan 400 publicaties. Echter, de methoden die gebruikt werden om deze lijnen te isoleren en in kweek te houden hebben een sterk selecterend effect. De subpopulaties van tumorcellen die onder deze condities overleven en uitgroeien staan uiteindelijk zo ver af van de originele tumor in de patiënt dat ze daar geen goed model meer voor vormen. Het is zelfs zo dat cellijnen die van verschillende tumortypen afgeleid zijn meer op elkaar lijken dan op het originele tumorweefsel dat ze zouden moeten modelleren. Het NCI60 panel is dan ook van weinig waarde geweest in het voorspellen van de effectiviteit van anti-tumor drugs in kankerpatiënten.

Ten tweede worden tumoren vaak onder de huid getransplanteerd, en groeien ze dus uit in een onnatuurlijke omgeving. Het staat vast dat tumorgroei en therapierespons mede bepaald worden juist door die omgevingsfactoren.

Een derde nadeel van de transplantatietechniek is dat tumoren niet spontaan ontstaan, dat er een mens-muis ver-



schil is tussen tumor en gastheer, en dat de muizen doorgaans immuun-deficiënt (= een verzwakt of niet werkend immuunsysteem) moeten zijn om überhaupt tumorgroei te kunnen laten plaatsvinden. Al deze factoren kunnen ook van invloed zijn op tumorgroei en therapierespons en dus verschillen introduceren tussen model en realiteit.

Ten vierde is de rapportage van gepubliceerde dierproefstudies vaak veel summierder dan die van klinische trials. Hierdoor is het soms lastig om te achterhalen hoe de proeven precies zijn uitgevoerd en/of in welke achtergrond. Een direct gevolg daarvan is dat het vaak niet mogelijk is om onafhankelijke studies goed met elkaar te vergelijken in meta-analyses, zoals dat gebeurt bij klinische studies.

Ten vijfde is er vooral bij dierproeven een sterke voorkeur voor publicatie van positieve resultaten. Echter, voor de vertaling van dierproeven naar de mens is het net zo belangrijk de studies te kennen die een negatief of geen effect hebben laten zien. Deze studies blijven doorgaans ongepubliceerd en onzichtbaar. Wetenschappelijke tijdschriften zoals PLOS ONE onderkennen dit probleem en publiceren goed-uitgevoerde studies met zowel positieve als negatieve resultaten.

#### ***Hoop voor de toekomst: het kán ook beter***

Bij directe transplantatie van een tumor uit een patiënt naar een muis is de tumor die in de muis uitgroeit min of meer identiek aan de originele tumor. Bovendien blijkt dat de respons van getransplanteerde tumoren op therapie voorspellend is voor therapierespons in de patiënten. Een groot nadeel van directe transplantatie is dat het slagings-

percentage doorgaans erg laag is en de relatieve kosten extreem hoog.

Voor o.a. darmkanker geldt dat nieuwe kweekmethoden onderzoekers momenteel in staat stellen om van vrijwel elke kankerpatiënt de tumor in vitro (buiten de patiënt) op te kweken onder condities waarbij de originele eigenschappen van de tumor behouden blijven. Bovendien kunnen deze kweken met een slagingspercentage van vrijwel 100% getransplanteerd worden naar muizen. Op deze manier kan dus buiten de patiënt (in vitro of in een muis) getest worden of de tumor zal reageren op bepaalde vormen van therapie. Het is de verwachting dat deze methode een grote impact zal gaan hebben op het afstemmen van therapie op de individuele kankerpatiënt. In het ideale geval is de voorspellende waarde van deze kweken zo goed dat proeven in muizen wellicht geheel achterwege gelaten kunnen worden.

Genetically-engineered mice (GEM) vormen een alternatief platform voor translationeel kankeronderzoek. GEMs zijn zodanig genetisch veranderd dat ze spontaan tumoren ontwikkelen. Deze modellen kennen niet de nadelen van de transplantatiemodellen en worden steeds meer gebruikt om tumorgroei, uitzaaiingsgedrag, therapierespons en -resistentie te bestuderen. Het nadeel van de GEM modellen is dat er geen relatie is met kankerpatiënten. Ze kunnen dus niet gebruikt worden om therapie op de individuele kankerpatiënt af te stemmen.

Een belangrijke vraag die nu beantwoord moet gaan worden is of de resultaten die worden verkregen met de

verbeterde kweekmethoden en met de geavanceerde GEM modellen ook een betere voorspellende waarde hebben voor het gedrag en de therapierespons van tumoren in kankerpatiënten. Daarnaast zal aandacht moeten worden besteed aan de standaardisering van de opzet en de verslaglegging van dierproeven, en het publiceren van studies met negatieve resultaten, zodat het mogelijk gaat worden om meerdere onafhankelijke studies met elkaar te vergelijken.

De nieuwe kweekmethoden en de GEM modellen worden niet alleen gebruikt voor onderzoek naar de effectiviteit van nieuwe (combinatie-) therapieën. Ze worden ook steeds meer gebruikt voor het beantwoorden van basale vragen met betrekking tot tumorbiologie, uitzaaingsgedrag, de vorming van tumor recidief (terugkeer van de tumor), en therapieresistentie. Alleen zo kan een gesloten cirkel ontstaan waarin basaal onderzoek de drijvende kracht is achter vernieuwingen in de behandeling van kanker; en waarin klinische problemen het uitgangspunt zijn bij het formuleren van basaal wetenschappelijke vraagstellingen. Dat is de essentie van translationeel kankeronderzoek en zal de rol van de muis als model in het proefdieronderzoek op termijn veranderen.



# Bijlage I: Speerpunten onderzoek UMC Utrecht

## Speerpunt Brain

Het speerpunt Brain richt zich op beroerte, ADHD/autisme, bipolaire stoornissen/schizofrenie en ALS.

Het brein is voor velen het meest interessante orgaan van ons lichaam, maar ook het meest onontgonnen terrein van de geneeskunde. Dit speerpunt focust op het verder ontginnen van de psychiatrische stoornissen ADHD, autisme, schizofrenie en bipolaire stoornis, en neurologische aandoeningen zoals beroertes, infarcten en de snel slopende spierziekte ALS.

*Het doel is om excellent onderzoek te verrichten op basis waarvan resultaten en kennis kunnen worden ingezet voor betere therapieën en topzorg om zo het UMC Utrecht in 2015 te laten behoren tot de wereldtop in onderzoek naar genen- en omgeving- interactie.*

## Speerpunt Immunity

Het speerpunt Immunity richt zich op opportunistische infecties, immuundeficiënties en chronische ontsteking.

Het afweersysteem kan grofweg op twee manieren falen: het ruimt óf te weinig óf te veel op. Patiënten met een ontregelde afweer zijn niet in één of twee specialismen te vangen. Reuma, taaislijmziekte, chronische darmontstekingen, bloedvergiftiging: in alle aandoeningen behorende bij dit speerpunt speelt ontregelde afweer een grote rol. Binnen dit speerpuntgebied zullen twee centra worden neergezet: een behandelcentrum voor infectieziekten en een kennis- en onderzoekscentrum voor klinische immunologie. Uiteraard is er overlap: kruisbestuiving levert veel op.

*Het doel is dat in 2015 patiënten met een verstoorde afweer in het UMC Utrecht de beste behandeling krijgen en dat kennis en kunde dan heeft geleid tot een verminderd risico op infecties.*

## Speerpunt Circulation

Het speerpunt Circulation richt zich op: patiënten met een vaataandoening in de hersenen, patiënten met een ischemische aandoening aan hun hart, patiënten met een aandoening van de bloedcirculatie in de perifere vaten en patiënten met een hoog risico op hart- en vaataandoeningen.

Dit speerpunt focust erop om mensen langer en gezonder te laten leven én de weg daar naartoe te verbeteren. Minder snijden en prikken, gerichte en verfijnde medicatie: allemaal winst, zelfs als mensen niet beter worden, want mensen met hartfalen, aderverkalking en beroertes blijven of worden vaak chronische patiënten. Missie is om te zorgen dat het infarct of de beroerte zich niet herhaalt. Ook is het de bedoeling de patiënt te blijven volgen en ervoor te zorgen dat ze na hun contact met het UMC Utrecht niet tussen wal en schip belanden.

*Het doel is om in 2015 hét “gezonde vaten”- beeldmerk van Nederland te zijn. Zowel voor patiënten als voor onderzoekstalant is het UMC Utrecht the place to be.*

## Speerpunt Cancer

Het speerpunt Cancer richt zich de komende vijf jaar op de behandeling van maag-darm-leverkanker en borstkanker.

De focus van dit speerpunt ligt op het ontwikkelen van betere manieren van diagnose en behandeling. Elke patiënt is uniek, elke tumor is uniek. Doordat men steeds beter het genetische profiel van een tumor kan vaststellen, ontwikkelen behandelingen zich naar personalized cancer care. Op basis van dat genetisch profiel kunnen medicijnen ontwikkeld worden, die de foute eiwitten, het product van de foute genen in de tumor, uitschakelen. Het allerbeste is ingrijpen vóór tumoren ontstaan. Dit speerpunt focust tevens op intensieve screening, waarbij bijvoorbeeld wordt gekeken of in tepelvocht van vrouwen die een hoog risico op het ontwikkelen van borstkanker hebben, specifieke afwijkende genen te vinden zijn die aangeven dat kanker aan het ontstaan is, en dat men dus een behandeling moet inzetten.

*Het doel is om in 2015 patiënten met kanker steeds gericht individueel te kunnen behandelen en begeleiden en dat patiënten langer dan ooit verder kunnen met leven in plaats van ziek zijn.*

## Speerpunt Stem Cell

Het speerpunt Stem Cell richt zich op: stamceltherapieën, tissue engineering (regeneratieve geneeskunde) voor het bewegingsapparaat, maagdarmsstelsel en het hart.

Regeneratieve geneeskunde (uit eigen stamcellen weefsel kweken dat beschadigd weefsel in het lichaam vervangt) gaat bij heel veel ziektebeelden een belangrijke rol spelen. Reuma, kindergeneeskunde, orthopedie, cardiologie... veel patiënten in het UMC Utrecht krijgen er mee te maken. De focus ligt op het bewegingsapparaat, op het hart en op maag/darmaandoeningen. De inzet is om regeneratieve therapieën te ontwikkelen voor in de kliniek.

***Het doel is om in 2015 een van de beste Regenerative Medicine laboratoria in Europa te hebben en dat het UMC Utrecht dan een magneet is voor klinische topstamcelonderzoekers.***

## Speerpunt Child Health

Het speerpunt Child Health richt zich op: chronische ontsteking, luchtweginfecties, stamceltherapieën en vruchtbaarheidsinterventies.

Child Health is een breed speerpunt. Het volgt het kind vanaf de conceptie tot zijn 18e levensjaar. Zowel zorg als onderzoek zijn gericht op alle fases die het kind in deze tijd doorloopt. Centrale thema's zijn vruchtbaarheidsbehandelingen, chronische ontstekingsziektes (zoals reuma en luchtweginfecties) en weesziektes (zeldzame aandoeningen waarbij genetica en regeneratieve geneeskunde uitkomst moeten gaan bieden). Zo kan men in het Hubrecht Instituut nu 'minidarmpjes' maken met weefsel uit één darmstamcel. Het streven is om de eerste darmstamceltransplantatie in het Wilhelmina Kinderziekenhuis plaats te laten vinden.

***Het doel is om in 2015 klaar te zijn voor de eerste darmstamceltransplantatie bij kinderen met een chronische darmziekte.***





## Bijlage 2: Focusgebieden onderzoek Universiteit Utrecht

### Groei en differentiatie

Het ontrafelen van moleculaire processen die ten grondslag liggen aan de verschillende fasen van de levenscyclus van cellen is van vitaal belang om hun normale ontwikkeling en rol bij ziekte te kunnen begrijpen. In dit focusgebied richten experts op het gebied van genoom-analyse (analyse van ons erfelijk materiaal), oncologie (kanker) en celbiologie (onderzoek naar onderdelen van de cel en de relatie tussen deze onderdelen) zich op het onderzoek van de biologie van weefselspecifieke stamcellen, pluripotente embryonale stamcellen (dit zijn stamcellen die zich tot verschillende cellen kunnen specialiseren) en kankercellen. Hierbij wordt een geïntegreerde benadering gehanteerd, van moleculen tot cellen en van fundamentele biologie tot de klinische praktijk bij dieren en menselijke patiënten.

Dankzij de unieke gecombineerde expertise en geavanceerde technologieën van het Hubrecht Instituut, de faculteit Diergeneeskunde en het UMC Utrecht hopen we geneesmiddelen te vinden voor ziekten die nu nog ongeneeslijk zijn. We streven ernaar nieuwe strategieën te ontwikkelen voor de behandeling van kanker; het herstellen van weefsel dat ernstig beschadigd is door chronische ziekten (regeneratieve geneeskunde) en het oplossen van vruchtbaarheidsproblemen bij menselijke patiënten en dieren.

### Infectie & immuniteit

De gevolgen van infectieziekten en immuunziekten voor de samenleving zijn enorm, zowel op het gebied van gezondheid als economie. We hoeven hiervoor alleen maar te denken aan de recente uitbraken van vogelgriep en het groeiende probleem van resistente ziekenhuisbacteriën om te beseffen waarom onderzoek op dit gebied van zeer groot belang is. Het ontwikkelen van nieuwe wetenschappelijke strategieën voor de preventie en genezing van (opnieuw) opkomende infecties en chronische ontstekingsziekten in de bredere context van volksgezondheid en milieu vormt de kern van het focusgebied. In de moleculaire en klinische onderzoeksprogramma's werken deskundigen op het gebied van gezondheid van mens en dier en milieuhygiëne nauw samen op alle niveaus: cellen, organen, patiënten, bevolking en veeteelt. Deze samenwerking biedt de optimale setting voor de klinische toepassing van ons zuiver wetenschappelijke on-

derzoek en voor de ontwikkeling van geneesmiddelen en humane en veterinaire vaccins. Dit zal een belangrijke bijdrage leveren aan de kwaliteit van de gezondheid van mens en dier, met de bijbehorende economische voordelen.

### **Levenswetenschappen en biocomplexiteit**

Van moleculen tot organismen. Biologische systemen ontleen veel belangrijke eigenschappen aan een continue uitwisseling van informatie tussen organisatieniveaus: weefsels, cellen, subcellulaire organellen (kleine onderdelen van een cel) en moleculaire complexen die eiwitten, DNA (erfelijk materiaal) en lipiden (vetten) bevatten. Dergelijke communicatienetwerken overschrijden individuele niveaus en zijn zeer dynamisch. De missie van dit focusgebied is het vastleggen van de essentie van biologische systemen door netwerken te ontcijferen die biologische processen op alle organisatieniveaus reguleren. Om de complexiteit van levende organismen te begrijpen, is naast gegevens van hoge kwaliteit ook nieuwe informatica nodig om deze gegevens te koppelen. De uitdaging is het opzetten van een gezamenlijk centrum voor biologische, structurele en computerexpertise in Utrecht, waar onderzoeksgroepen die zich richten op biomoleculaire analyse, biocomplexiteit en bio-imaging nauw samenwerken om meer inzicht te verwerven in de regulatienetwerken binnen en tussen cellen. De verwachting is dat dit soort onderzoek zal leiden tot biotechnologische innovatie, verbeterde duurzame landbouw en een diepgaander begrip van ziekteprocessen.

### **Cardiovasculair onderzoek**

Hart- en vaatziekten zijn in de westerse wereld nog steeds de belangrijkste oorzaak van sterfte. Echter, de laatste decennia is er belangrijke vooruitgang geboekt bij de ontwikkeling van nieuwe en werkzame behandelingen. Het hedendaagse onderzoek richt zich derhalve meer en meer op vroegtijdige diagnose en preventie. In het UMC Utrecht speerpunt "Circulation" staan de 3Ps centraal: predictie, prognose en preventie. Het belangrijkste onderwerp in het focusgebied is het in patiënten cohorten (groepen) zoeken naar genetische en moleculaire markers (specifieke genen of eiwitten) die een verhoogd risico van het ontwikkelen of verergeren van hart- en vaatziekten met zich



meebrengen. Hiervoor maken wij gebruik van geavanceerde beeldvormende en moleculaire technieken. Het betreft onderzoek naar (de functie van) onbekende eiwitten die geïdentificeerd worden met behulp van nieuwe technieken, zoals proteomics. Het betreft hier zowel eiwitten afkomstig uit het hart als uit de vaten.

Het tweede belangrijke onderwerp betreft onderzoek naar het vermogen van stamcellen om nieuw cardiovasculair weefsel te genereren, ten bate van patiënten met een levensbedreigende hart- en vaatziekte. Tenslotte wordt farmaco-epidemiologisch onderzoek verricht om de interactie tussen medicatie en het genoom (geheel van erfelijke eigenschappen) van de individuele patiënt beter te begrijpen om zodoende bijwerkingen te voorkomen.

Bij de onderzoeksonderwerpen wordt gestreefd naar het faciliteren van geïndividualiseerde patiëntenzorg.

## **Geneesmiddelen innovatie**

Er is nog steeds een schrijnend gebrek aan werkzame geneesmiddelen voor een groot aantal levensbedreigende en chronische ziekten. Voor de ontwikkeling van deze geneesmiddelen is baanbrekend verkennend onderzoek naar bioactieve moleculen voor de behandeling van ziekten, gebaseerd op belangrijke inzichten in de moleculaire processen die aan deze ziekten ten grondslag liggen, essentieel. In nauwe samenwerking met groepen in andere focusgebieden van de Universiteit Utrecht richt men zich daarom op het identificeren van mogelijke aangrijpingspunten voor behandeling van ziekten en op het genereren van nieuwe moleculen, methoden, concepten en benaderingen die onmisbaar zijn bij het onderzoek en de ontwikkeling van geneesmiddelen in de farmaceutische industrie.

Andere onderzoeksthema's in dit focusgebied zijn het ontwerpen van werkzaamere afgiftesystemen voor geneesmiddelen en het bewaken van recent geïntroduceerde nieuwe geneesmiddelen om een veilig en optimaal medicijngebruik in de samenleving te waarborgen. Met de aanwezige expertise in zowel de moleculaire en levenswetenschappen als in medisch en diergeneeskundig onderzoek wordt een kennisplatform geboden voor geneesmiddelen bieden om een aantrekkelijke partner voor academische en industriële onderzoekers te zijn.

## Epidemiologie

Het epidemiologisch onderzoek richt zich op de oorzaak, diagnose, prognose behandeling en preventie van ziekten of gezondheidsproblemen binnen populaties van mensen en dieren. Het doel is factoren te identificeren welke een bijdrage leveren aan deze fenomenen of deze beïnvloeden. Het domein van het epidemiologisch onderzoek binnen de Universiteit Utrecht is breder in vergelijking met andere universiteiten en omvat een unieke combinatie van internationaal gerenommeerde onderzoeksgroepen, verspreid over vier verschillende faculteiten. Uitgangspunt van het onderzoek is de overtuiging dat er binnen humane en dierlijke populaties beschrijvende en oorzakelijke verbanden bestaan tussen bijv. genetische, levensstijl gerelateerde en omgevingsfactoren enerzijds en het optreden en de dynamiek van ziekten anderzijds. Kennis van deze relaties is essentieel voor het doorgronden en controleren van ziekten. In nauwe samenwerking met medische en veterinaire specialisten wordt gestreefd naar een beter begrip van de etiologie, diagnose, prognose, behandeling en preventie van ziekten, door het doen van onderzoek, verspreiding van informatie en het verzorgen van onderwijs. In afwijking van de meeste epidemiologische onderzoeksgroepen wordt binnen de Universiteit Utrecht de zoektocht naar eerder beschreven verbanden uitgevoerd vanuit een sterke integratie tussen de klinische, milieu georiënteerde, farmacologische, moleculaire en theoretische epidemiologen en statistici. Door deze mondiaal unieke samenwerking tussen onderzoeksgroepen kan worden geprofiteerd van een vergaande integratie van kennis en expertise, met als doel het realiseren van een internationaal leidende positie binnen het humaan en veterinair epidemiologisch onderzoek. Daarbij gaat specifieke aandacht uit naar cardiovasculaire aandoeningen, kanker, allergieën en infectieziekten, waarbij de laatste relevant is voor zowel mens als dier.



## Bijlage 3: 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 Universiteit Utrecht en het UMC Utrecht een aantal administratieve en logistieke werkprocedures vastgelegd waaraan onderzoekers en opleiders die op het terrein van de Universiteit Utrecht en het UMC Utrecht dierexperimentele werkzaamheden willen verrichten, zich moeten committeren. In deze bijlage wordt kort stap-voor-stap uitgelegd welke handelingen een medewerker van de Universiteit Utrecht of het UMC Utrecht moet verrichten om dierexperimenteel onderzoek of onderwijs te mogen doen.

### 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 proefdierdeskundigen 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/zij 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/informatie](http://www.dec-utrecht.nl/informatie)).

## **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 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 proefdierlocatie. 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 Wet op de Dierproeven (Wod) beschouwd als een overtreding. In het WP dient de onderzoeker (art.9), dan wel de persoon aan wie dat 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 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 & 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 de Universiteit Utrecht en het UMC 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. Het resulterende rapport, Zo Doende, komt beschikbaar op de website van de overheid. Het rapport van 2011 is beschikbaar via: <http://www.rijksoverheid.nl/documenten-en-publicaties/rapporten/2012/10/01/zo-doende-2011.html>



# B4

## Bijlage 4: Literatuur

### Publicaties bij paragraaf 3.2.4

#### De farmaceutische ontwikkeling van de holmium microsferen:

1. Nijsen JFW, van Steenberg MJ, Kooijman H, Talsma H, Kroon-Batenburg LMJ, van de Weert M, van Rijk PP, de Witte A, van het Schip AD, and Hennink WE. Characterization of poly(L-lactic acid) microspheres loaded with holmium acetylacetonate. *Biomaterials* 22, 3073-3081, 2001.
2. Nijsen JFW, van het Schip AD, van Steenberg MJ, Zielhuis SW, Kroon-Batenburg LMJ, van de Weert M, van Rijk PP, and Hennink WE. Influence of neutron irradiation on holmium acetylacetonate loaded poly(L-lactic acid) microspheres. *Biomaterials* 23, 1831-1839, 2002.
3. Zielhuis SW, Nijsen JFW, Figueiredo R, Feddes B, Vredenburg AM, van het Schip AD, and Hennink WE. Surface characteristics of holmium-loaded poly(L-lactic acid) microspheres. *Biomaterials* 26, 925-932, 2005.
4. Zielhuis SW, J.F.W. Nijsen JFW, de Roos R, Krijger GC, van Rijk PP, Hennink WE, and van het Schip AD. Production of GMP-grade radioactive holmium loaded poly(L-lactic acid) microspheres for clinical application. *Int. J. Pharm.* 311, 69-74, 2006.
5. Zielhuis SW, Nijsen JFW, Krijger GC, van het Schip AD, and Hennink WE. Holmium-loaded poly(L-lactic acid) microspheres: in vitro degradation study. *Biomacromolecules* 7, 2217-2223, 2006.

#### Dierexperimentele studies:

1. Nijsen JFW, Rook D, Brandt C, Meijer R, Dullens H, Zonnenberg B, de Klerk J, van Rijk P, Hennink WE, van het Schip AD. Targeting of liver tumour in rats by selective delivery of holmium-166 loaded microspheres: a biodistribution study. *Eur. J. Nucl. Med.* 28, 743-749, 2001.
2. Van Es RJJ, Nijsen JFW, Dullens HFJ, Kicken M, van der Bilt A, Hennink WE, Kolle R, and Slootweg PJ. Tumour embolization of the Vx2 rabbit head and neck cancer model with dextran hydrogel and holmium-poly(L-lactic acid) microspheres: a radionuclide and histological pilot study. *J. Cranio-MaxilloFac. Surg.* 29, 289-297, 2001.
3. Long-term toxicity of holmium-loaded poly(L-lactic acid) microspheres in rats. Zielhuis SW, J. Nijsen FWK, Seppenwoolde JH, Bakker CJG, Krijger GC, Dullens HFJ, Zonnenberg BA, van Rijk PP, Hennink WE, and van het Schip AD. *Biomaterials* 28, 4591-4599, 2007.
4. Vente MAD, Nijsen JFW, de Roos R, van Steenberg MJ, Kaaijk CNJ, Koster-Ammerlaan MJJ, de Leegte PFA, Hennink WE, van het Schip AD, and Krijger GC. Neutron activation of holmium poly(L-lactic acid) microspheres for hepatic arterial radioembolization: a validation study. *Biomedical Microdevices* 11, 763-772, 2009.

## Klinische studies:

1. Smits MLJ, Nijsen JFW, Van den Bosch MAAJ, Vente MAD, Lam MGEH, van het Schip AD, Zonnenberg BA. Holmium-166 radioembolisation in patients with unresectable, chemorefractory liver metastases (HEPAR trial): a phase I, dose-escalation study *Lancet Oncology* 2012 13:1025-34
2. van de Maat GH, Seevinck PR, Elschoot M, Smits MLJ, de Leeuw H, van het Schip AD, Vente MAD, Zonnenberg BA, de Jong HWAM, Lam MGEH, Viergever MA, van den Bosch MAAJ, Nijsen JFW, Bakker CJG. MRI-based biodistribution assessment of holmium-166 poly (L-lactic acid) microspheres after radioembolisation *Eur. Radiol.* 2013; 23:827-35.

## Publicaties bij paragraaf 4.2

1. Y.S. Derose, G. Wang, Y.C. Lin, P.S. Bernard, S.S. Buys, M.T. Ebbert, R. Factor, C. Matsen, B.A. Milash, E. Nelson, L. Neumayer, R.L. Randall, I.J. Stijleman, B.E. Welm, A.L. Welm, Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes, *Nat. Med.* (2011).
2. B.L. Emmink, W.J. van Houdt, R.G. Vries, F.J. Hoogwater, K.M. Govaert, A. Verheem, M.W. Nijkamp, E.J. Steller, C.R. Jimenez, H. Clevers, R. Borel, I. O. Kranenburg, Differentiated human colorectal cancer cells protect tumor-initiating cells from irinotecan, *Gastroenterology* 141 (2011) pp. 269-278.
3. J.P. Gillet, A.M. Calcagno, S. Varma, M. Marino, L.J. Green, M.I. Vora, C. Patel, J.N. Orina, T.A. Eliseeva, V. Singal, R. Padmanabhan, B. Davidson, R. Ganapathi, A.K. Sood, B.R. Rueda, S.V. Ambudkar, M.M. Gottesman, Redefining the relevance of established cancer cell lines to the study of mechanisms of clinical anti-cancer drug resistance, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 108 (2011) pp. 18708-18713.
4. J.P. Gillet, S. Varma, M.M. Gottesman, The Clinical Relevance of Cancer Cell Lines, *J. Natl. Cancer Inst.* (2013).
5. M. Hidalgo, E. Bruckheimer, N.V. Rajeshkumar, I. Garrido-Laguna, O.E. de, B. Rubio-Viqueira, S. Strawn, M.J. Wick, J. Martell, D. Sidransky, A pilot clinical study of treatment guided by personalized tumorgrafts in patients with advanced cancer, *Mol. Cancer Ther.* 10 (2011) pp. 1311-1316.
6. J.I. Johnson, S. Decker, D. Zaharevitz, L.V. Rubinstein, J.M. Venditti, S. Schepartz, S. Kalyandrug, M. Christian, S. Arbutck, M. Hollingshead, E.A. Sausville, Relationships between drug activity in NCI preclinical in vitro and in vivo models and early clinical trials, *Br. J. Cancer* 84 (2001) pp. 1424-1431.
7. D.M. Keefe and E.H. Bateman, Tumor control versus adverse events with targeted anticancer therapies, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 9 (2012) pp. 98-109.
8. Rottenberg, M. Pajic, J. Jonkers, Studying drug resistance using genetically engineered mouse models for breast cancer, *Methods Mol. Biol.* 596 (2010) pp. 33-45.
9. B. Rubio-Viqueira and M. Hidalgo, Direct in vivo xenograft tumor model for predicting chemotherapeutic drug response in cancer patients, *Clin. Pharmacol. Ther.* 85 (2009) pp. 217-221.
10. B. Rubio-Viqueira, A. Jimeno, G. Cusatis, X. Zhang, C. Iacobuzio-Donahue, C. Karikari, C. Shi, K. Danenberg, P.V. Danenberg, H. Kuramochi, K. Tanaka, S. Singh, H. Salimi-Moosavi, N. Bouraoud, M.L. Amador, S. Altiok, P. Kulesza, C. Yeo, W. Messersmith, J. Eshleman, R.H. Hruban, A. Maitra, M. Hidalgo, An in vivo platform for translational drug development in pancreatic cancer, *Clin. Cancer Res.* 12 (2006) pp. 4652-4661.



11. T. Sato, D.E. Stange, M. Ferrante, R.G. Vries, J.H. van Es, B.S. Van den, W.J. van Houdt, A. Pronk, G.J. Van, P.D. Siersema, H. Clevers, Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium, *Gastroenterology* 141 (2011) pp. 1762-1772.
12. S.V. Sharma, D.A. Haber, J. Settleman, Cell line-based platforms to evaluate the therapeutic efficacy of candidate anticancer agents, *Nat. Rev. Cancer* 10 (2010) pp. 241-253.
13. R.H. Shoemaker, The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen, *Nat. Rev. Cancer* 6 (2006) pp. 813-823.
14. J.J. Tentler, A.C. Tan, C.D. Weekes, A. Jimeno, S. Leong, T.M. Pitts, J.J. Arcaroli, W.A. Messersmith, S.G. Eckhardt, Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 9 (2012) pp. 338-350.
15. D. Tuveson and D. Hanahan, Translational medicine: Cancer lessons from mice to humans, *Nature* 471 (2011) pp. 316-317.
16. T.L. Whiteside, The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth, *Oncogene* 27 (2008) pp. 5904-5912.

# PROEFDIERKUNDIG JAARVERSLAG **2012**

Met bijzondere aandacht voor onderzoek naar kanker

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



**UMC Utrecht**



**Universiteit Utrecht**