

1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Isolatie en kweek van cellen uit rat hersenen voor gliale littekenvorming in vitro modelontwikkeling
1.2	Looptijd van het project	7-7-2020-7-7-2024
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	ruggengraat letsel, cel-isolatie, in vitro model, littekenvorming

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Jaarlijks lopen volgens de WHO wereldwijd tussen de 250.000 en 500.000 mensen letsel aan het ruggenmerg op. De helft van deze groep is permanent verlamd, terwijl de rest er andere ernstige functionele beperkingen aan overhoudt. De ontwikkeling van biomaterialen om de geïnduceerde schade te herstellen, neemt gestaag toe. Als reactie op het letsel ontwikkelt het neuronale weefsel een beschermend litteken. Dit litteken wordt niet alleen beschouwd als een belangrijke remmende factor voor neuronale regeneratie, maar het zou ook de efficiëntie van het geïntroduceerde biomateriaal kunnen beperken. Het doel van dit onderzoek is het isoleren van relevante primaire cellen uit hersenen van 5 dagen oude rat pups, om een in vitro model voor de vorming van een litteken te ontwikkelen.
-
- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?
- Een in vitro model voor de vorming van een litteken kan de ontwikkeling van biomaterialen voor behandelingen van ruggenmergletsel sterk beïnvloeden. Het kan bijvoorbeeld gebruikt worden om de hoeveelheid littekens te voorspellen en maakt het mogelijk om verschillende materialen te ontwikkelen om littekenvorming te voorkomen. Een dergelijk in vitro model kan leiden tot een snellere ontwikkeling van behandelmethoden en/of materialen en daarmee een efficiëntere behandeling van ruggenmergletsel. Bovendien zal dit model het aantal proefdieren verminderen dat in pre-klinische in vivo onderzoeken wordt gebruikt, omdat cellen van een dier voor meerdere tests kunnen worden gebruikt en materialen die ongewenste effecten in vitro opleveren, niet verder in een dier moeten worden getest.
-
- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?
- We verwachten maximaal 140 pups in 4 jaar tijd te gebruiken voor dit onderzoek.
-
- 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?
- De verwachte negatieve effecten op het welzijn van de proefdieren zijn stress, en de doding.
-
- 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?
- Er wordt verwacht dat het totale ongerief voor 100% van de dieren licht zal zijn.
-

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop? De pups worden op een tijdstip van 5 dagen naar geboorte gedood.

4 Drie V's

4.1 **Vervanging** Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden. Een overgrote meerderheid van in vivo ruggengraat letsel-modellen wordt in de rat uitgevoerd. Hoewel er neuronale cellijnen bestaan, die als vervanging voor primaire cellen van dieren zouden kunnen dienen, verschilt de genexpressie van deze cellijnen sterk met de ex vivo situatie. Daarom is het gebruik van primaire cellen van ratten cruciaal voor de ontwikkeling van de hier voorgestelde evaluatiemethode. De resultaten van primaire cellen zullen echter worden vergeleken met de resultaten van cellijnen. Als de voorspellende waarde vergelijkbaar is, zal een cellijn worden gebruikt voor toekomstige experimenten. Desalniettemin zal ook de isolatie van primaire cellen, indien deze effectief is, een sterke vermindering van het aantal dieren mogelijk maken in toekomstige experimenten waarbij het effect van verschillende materialen op de behandeling van ruggengraat letsel wordt onderzocht. Het komt daardoor dat cellen van een dier voor meerdere tests kunnen worden gebruikt en materialen die ongewenste effecten in vitro opleveren, niet verder in een dier moeten worden getest.

4.2 **Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. Volgens de beschikbare protocollen zijn de hersenen van ongeveer 7 pups nodig voor een efficiënte isolatie van primaire astrocyten. De cellen worden tot 3 maal in vitro doorgezet en ingevroren voor later gebruik. Pas als alle beschikbare ingevroren cellen zijn verbruikt in de verschillende experimenten, zullen nieuwe ratten worden gebruikt om cellen te isoleren. We verwachten dat er maximaal 35 pups per jaar nodig zullen zijn.

- 4.3 **Verfijning** Verklar de keuze voor de diersoort(en). Verklar waarom de gekozen diemodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.
- De pups zullen worden gedood door injectie met een erkend euthanasie-middel (pentobarbital), wat uitgevoerd en gecontroleerd zal worden door ervaren personeel om zo een juiste uitvoering van de procedure te verzekeren.
- 4.4 Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.
- De gezondheid en het welzijn van de dieren zal dagelijks gecontroleerd worden en de stress zo minimaal mogelijk wordt gehouden.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	13 juli 2020
Beoordeling achteraf	Nee
Andere opmerkingen	Nee