



## Niet-technische samenvatting 20209624

## 1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project | Identificatie en functionele karakterisatie van genen en mechanismen die betrokken zijn bij de regulatie van bloedvormende stamcellen
- 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | bloedvormende stamcellen, veroudering, leukemie, stamceltransplantatie

## 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.  Fundamenteel onderzoek
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
- 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)
- Bloedvormende (hematopoietische) stamcellen zorgen ervoor dat gedurende ons leven alle verschillende typen bloedcellen in voldoende mate worden aangemaakt. Zij doen dit door zichzelf te vernieuwen en door uit te rijpen tot rode- of witte bloedcellen of bloedplaatjes. Hoe het moleculaire proces van uitrijping en zelfvernieuwing van stamcellen verloopt is slechts zeer beperkt begrepen. Ontsporingen van dit proces kunnen leiden tot een tekort aan bloedcellen, hetgeen zich kan manifesteren als bloedarmoede of afgenomen afweer, of juist tot een overschot aan bloedcellen, culminerend in leukemie. Het doel van dit project is om te begrijpen hoe stamcellen op moleculair niveau de juiste keuzen maken om zichzelf te vernieuwen dan wel uit te rijpen, en hoe gedurende veroudering dit proces moeizamer verloopt. Tevens zullen er studies worden uitgevoerd waarbij genetisch of farmacologisch in de zelfvernieuwing van normale of leukemische stamcellen wordt ingegrepen.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	Een beter begrip van de mechanismen die ten grondslag liggen aan bloedcelvorming zal a). leiden tot een beter begrip omtrent het ontstaan van leukemieën, b). kunnen leiden tot methoden om stamcellen buiten het lichaam om te vermeerderen, c). kunnen leiden tot strategieën om stamcelveroudering te voorkomen of zelf om te keren, en d). het mogelijk maken om verschillende typen uitgerijpte bloedcellen buiten het lichaam om te genereren. Gezamenlijk zal deze kennis patiënten die bloedziekten ontwikkelen ten goede komen.
3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Voor dit onderzoek worden muizen gebruikt. Op grond van de omvang van de door ons voorgestelde experimenten verwachten wij in de komende 5 jaar 5920 muizen te gebruiken.
3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De meeste proefdieren zullen worden gebruikt als stamcel donor of stamcelontvanger. De eerste categorie dieren wordt, op verschillende leeftijden, getermineerd zonder enige verdere behandeling. De negatieve gevolgen voor het welzijn van deze stamcel donoren blijft derhalve erg beperkt. Stamcelontvangende proefdieren worden geconditioneerd met bestraling en soms chemotherapie om hun eigen bloedvormende systeem te vernietigen of te verzwakken, waarna het ontvankelijk is voor acceptatie van de getransplanteerde stamcellen. De negatieve gevolgen voor deze muizen zijn een tijdelijk verlies van lichaamsgewicht en een toegenomen ontvankelijkheid voor infectie (kort na bestraling, voortkomend uit tijdelijke verminderde bloedcelproductie). In sommige experimenten zullen stamcellen worden getransplanteerd waarin door middel van genetische manipulatie genen worden geactiveerd of juist onderdrukt. In voorkomende gevallen kan dit leiden tot leukemievorming. In andere experimenten worden leukemiecellen getransplanteerd die vervolgens genetisch of farmacologisch bestreden worden. De negatieve gevolgen voor het welzijn van getransplanteerde dieren is over het algemeen gering tot matig, tenzij leukemie optreedt, waarna ernstig ongerief mogelijk is.
3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Gering 20%, matig 80%. Deze inschatting is gemaakt op grond van gegevens uit de afgelopen 5 jaar en wordt per experiment verduidelijkt in de bijlagen. Aangezien de aard van de in deze aanvraag voorgestelde experimenten niet wezenlijk afwijkt van die van de voorgaande jaren voorzien wij geen verschuiving in deze verdeling.
3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	Dieren worden gedood in het kader/na afloop van de proef

## 4 Drie V's

4.1 <b>Vervanging</b> Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	De functie van bloedvormende stamcellen kan slechts worden vastgesteld door deze te transplanteren in dieren waarin de eigen bloedcelvorming is verstoord. Hoewel uitgebreide in vitro en andere moleculaire analyses ook zullen worden gebruikt ter nadere karakterisatie, kan slechts het uitlezen van het vermogen van getransplanteerde stamcellen tot bloedcelvorming na vivo transplantatie de functie van de testen stamcellen definitief bepalen. Ook voor in vitro experimenten zullen eerst primaire stamcellen van stamcel donoren moeten worden geïsoleerd. Hoewel wij in ons lab waar mogelijk gebruik maken van cellijnen, zijn juist in cellijnen het zelfvernieuwings- en differentiatieproces verstoord, en zijn deze dus beperkt toepasbaar. Tevens
--	---

is de beste functionele definitie van een normale of leukemische stamcel dat deze groeit en zich verspreidt in vivo, cq. in het intacte dier.

#### 4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Voor iedere proef zal een inschatting worden gemaakt van de grootte van het te verwachten in vivo effect, en op grond daarvan zal het aantal benodigde dieren worden bepaald. Het is van belang om op te merken dat ons lab een meer dan 20-jarige ervaring heeft in het uitvoeren van experimenteel hematologische studies en beenmergtransplantaties, zodat in het algemeen een zeer goede inschatting gemaakt kan worden van het aantal benodigde dieren. Tevens zal, voordat over gegaan wordt tot in vivo stamceltransplantaties, eerst uitgebreid in vitro onderzoek plaats vinden met de gemanipuleerde test stamcellen, zodat ook op grond hiervan een inschatting kan worden gemaakt van het te verwachten effect.

Voor studies met leukemiecellen zal, waar mogelijk, gebruik worden gemaakt van cellijnen en in vitro kweeksystemen.

#### 4.3 Verfijning

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

De muis is in het veld van de experimentele hematologie in essentie het enige proefdiermodel dat gebruikt wordt omdat transplantaties tussen genetisch identieke dieren mogelijk zijn en er veel genetisch gemodificeerde muizenstammen aanwezig zijn (heel zelden worden studies met honden en primaten uitgevoerd). Onze eigen groep heeft 20+ jaar ervaring met dergelijke studies. Bloedcelvorming in de muis vertoont zo een gelijkenis met die van de mens dat menselijke bloedvormende stamcellen eenvoudig getransplanteerd kunnen worden in immuun deficiënte ontvanger muizen, waarna in deze een zeer groot deel van de bloedcellen van humane origine is.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

Dieren die gebruikt zullen worden als stamceldonor zullen weinig tot geen ongerief ervaren. De dieren die als stamcelontvanger worden gebruikt ontvangen voorafgaand en gedurende enige tijd na bestraling profylactisch antibiotica, eiwit-rijk voedsel en, indien noodzakelijk, een papje van poedervoer met water. Na transplantatie worden dieren dagelijks gemonitord, waarbij vooral gelet wordt op gewichtsafname, lichaamshouding en gedrag. Pijnbestrijding is niet noodzakelijk. Dieren die gedurende 2 weken progressief gewichtsverlies vertonen zullen, als ook andere signalen duiden op ongerief (gedrag/houding) worden getermineerd. Er zal extra worden gelet op dieren waarin de ontwikkeling van leukemie verwacht wordt, door middel van regelmatige bloedafname en frequente monitoring.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

16 juli 2020

Beoordeling achteraf

Nee

Andere opmerkingen

Nee

