Centrale Commissie Dierproeven

Niet technische samenvatting 2015333

1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Hoe reguleren hormonen en boodschapperstoffen de zaadcelvorming bij de zebravis?
1.2	Looptijd van het project	01-01-2016 – 01-01-2021
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	weefselkweek, zaadbal, hormonale regulatie v/d zaadcelvorming, genetische verandering, vruchtbaarheid

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- x Fundamenteel onderzoek
- ☐ 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
- x 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)

We weten niet precies hoe voortplantingshormonen de zaadcelvorming aansturen. Toch is deze kennis van groot belang omdat het gedrag van deze zaadcellen bepalend is voor de mannelijke vruchtbaarheid. Bij zoogdieren en mensen kunnen we de zaadcelvorming niet in een weefselkweek bestuderen, maar bij enkele vissen, waaronder de zebravis, wel. De nieuwe kennis die dit oplevert kan van betekenis zijn voor zoogdieren maar ook voor de verbetering van duurzaamheid en dierlijk welzijn in de commerciële vis(zalm)teelt (zie punt 3.2). In ons project bestuderen we hoe voortplantingshormonen de vorming van zaadcellen reguleren en aansturen. Dat doen we door teelbalweefsel van de zebravis in weefselkweek te onderzoeken waarvoor zebravissen gedood

		moeten worden om teelbalweefsel te verzamelen.
3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	De resultaten van de experimenten hebben als opbrengst een kennisvermeerdering over de regulatie van de mannelijke voortplanting en de zaadcelvorming. We bestuderen vooral de vroege stadia van de zaadcelvorming bij de zebravis (zaadstamcellen). Deze soort wordt als vergelijkend vertebraten-model beschouwd maar is ook een model voor andere vissen (zie aspect aquacultuur beneden). We willen informatie verzamelen over de zogenaamde boodschapperstoffen die de activiteit van de zaadcelstamcellen reguleren. In eerste instantie moeten we de resultaten van eerder onderzoek met behulp van een onafhankelijke methode bevestigen, bij voorbeeld m.b.t. de rol van voortplantingshormonen bij het aansturen van het gebruik van bepaalde genen. Op basis van de verkregen gegevens kunnen wij een aantal boodschapperstoffen voor verder onderzoek selecteren. Door stoffen aan de weefselkweek toe te voegen die de werking van boodschapperstoffen remmen of nabootsen kunnen wij de rol van de boodschapperstoffen bij de zaadcelvorming beter begrijpen. Bij sommige studies gebruiken we genetisch veranderde dieren die in bepaalde celtypen van de zaadbal gekleurde eiwitten aanmaken, of dieren waarvan een bepaald gen onbruikbaar is gemaakt, wat een verminderde vruchtbaarheid tot gevolg kan hebben. Door genetisch veranderde dieren te gebruiken kunnen we op een snelle en directe manier (bijvoorbeeld met een microscoop) het gebruik van bepaalde genen analyseren. Dat kan dan ook op levend weefsel toegepast worden. De resultaten kunnen ook van belang zijn voor de verbetering van duurzaamheid en dierlijk welzijn in de commerciële vis(zalm)kweek. Bij zalm mannetjes begint onder kweekomstandigheden de puberteit en daarmee de zaadcelvorming vervroegd. Hierdoor ontstaat in de loop van 2-3 maanden een groeiachterstand, een verhoogde vatbaarheid voor infecties, welzijnsproblemen in zoutwater (waar alle kwekerijen zijn), en de kans dat in geval van ontsnapping uit de kwekerij geslachtsrijpe dieren erfelijk materiaal in wilde populaties inbrengen (genetische ‘vervuiling’). De resultaten van dit project kunnen bijdragen aan het vinden van een oplossing voor deze problemen. Dit maatschappelijk belang van het onderzoek aan de zebravis is ook de basis voor de financiering van de studies door de EU en de ‘Norwegian Research Council’.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Zebravis, maximaal 16000 dieren
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het	In alle gevallen worden de dieren als weefseldonoren gebruikt, voor microscopisch onderzoek of om weefselkweekexperimenten uit te voeren. In

	welzijn van de proefdieren?	de meeste gevallen (uitzondering: gebruik van dieren voor de productie van genetisch veranderde embryo's) bestaat de dierproef uit het doden van de dieren. Bij 1/3e van deze dieren gaat hieraan vooraf dat zij twee weken vóór het verzamelen van teelbalweefsel in aquariumwater verblijven waaraan oestrogeen is toegevoegd. Hierdoor worden minder voortplantingshormonen aangemaakt en komt het tot een verrijking van voor bepaalde vraagstellingen belangrijke zaadvoorlopercellen in de teelbal; verder zijn geen negatieve gevolgen van de oestrogeenbehandeling bekend. Wij verwachten dat de transgene aanmaak van b.v. gekleurde eiwitten in bepaalde celtypen van de zaadbal überhaupt geen nadelige gevolgen zal hebben voor de vissen. Het uitschakelen van bepaalde genen in de zaadbal zal mogelijk gepaard gaan met een (gedeeltelijk) verlies van de vruchtbaarheid; ook hier verwachten wij geen negatieve gevolgen voor het welzijn van de dieren.
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Het verblijf in oestrogeen bevattend water en/of het doden van de dieren gaat gepaard met licht ongerief.
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	Alle dieren worden 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.	De zaadcelvorming is een complex ontwikkelingsproces waarbij tenminste vijf celtypen met elkaar samenwerken. Ze worden daarbij gereguleerd door een 'cocktail' van boodschapperstoffen. Wij zijn enkele jaren geleden erin geslaagd om een weefselkweeksysteem voor teelbalweefsel van volwassen zebravissen te ontwikkelen dat geschikt is om deze processen te bestuderen. Wel moeten we telkens opnieuw weefselkweken aanleggen, zodat proefdieren nodig zijn om teelbalweefsel te verzamelen.
4.2	**Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Om onnodige verdubbeling van studies te voorkomen volgen we het onderzoek op het gebied van de regulatie van de zaadcelvorming (in het algemeen maar in het bijzonder bij vissen) nauwlettend. Gebaseerd op eerdere experimenten weten wij dat voor gegevens verkregen met de microscoop de steekproefgrootte kleiner kan zijn dan bij gegevens verkregen met natte laboratoriumtechnieken. De experimentele planning houdt hier rekening mee om het benodigd aantal dieren te beperken.
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	De zebravis wordt als proefdiermodel wereldwijd gebruikt. Daarom is er omvangrijke achtergrondkennis beschikbaar. Ook hebben wij eerder een weefselkweeksysteem ontwikkeld voor teelbalweefsel van de zebravis zodat bij deze soort de zaadcelvorming in weefselkweek bestudeerd kan worden. In alle gevallen worden de dieren gedood om teelbalweefsel te verzamelen t.b.v. weefselkweek of morfologisch onderzoek. Bij 1/3e van de dieren gaat

project.	hieraan een verblijf voor 2 weken in oestrogeen bevattend water vooraf waardoor zaad voorlopercellen ophopen maar dat heeft geen nadelige gevolgen voor het welzijn van de dieren en het ongerief blijft gering.
Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.	Als we bij de dieren een verandering in zwem- en/of eetgedrag of lichaamsgewicht waarnemen zullen we het dier eerst isoleren en bij uitblijven van een verbetering doden. In het verleden kwam dit echter nauwelijks voor (enkele zieke vissen uitgezonderd) en is de kans op het optreden van veranderd eet- en/of zwemgedrag zeer klein.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	14-01-2016
Beoordeling achteraf	nee
Andere opmerkingen	geen