



Niet-technische samenvatting 2016484

1 Algemene gegevens

- | | |
|------------------------------|--|
| 1.1 Titel van het project | Het ontrafelen van het mechanisme achter metabool programmeren door voeding vroeg in het leven |
| 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar |
| 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Type 2 diabetes, obesitas, metabool syndroom, epigenetica, metabool programmeren |

2 Categorie van het project

- | | |
|--|---|
| 2.1 In welke categorie valt het project. | ☒ Fundamenteel onderzoek |
| | ☒ Translationeel of toegepast onderzoek |
| | ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie |
| <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | ☐ 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)	Overgewicht (obesitas) en suikerziekte (Type 2 diabetes) vormen een steeds groter medisch en sociaal-economisch probleem. Overmatige voedselinname en een tekort aan lichaamsbeweging, kenmerkend voor de Westerse samenleving, spelen hierin een grote rol. Obesitas en diabetes, samen met hart- en vaatziekten en bepaalde vormen van kanker (darm-, prostaat en borstkanker) zijn onderdeel van het "metabool syndroom", en worden allen gekenmerkt door een onbalans in de vet- en suikerstofwisseling. Bij type 2 diabetes spelen enerzijds insuline resistentie en anderzijds verminderde insuline afgifte een rol. Insuline resistentie kan lang door het lichaam worden gecompenseerd door het verhogen van de insuline productie, maar wanneer dit niet meer voldoende is, leidt dit tot diabetes. Gedurende een kritische periode in het leven worden stofwisselingseigenschappen bepaald, die de rest van het leven een belangrijke rol spelen. Dit fenomeen heet 'programmeren' en omvat gebeurtenissen in het vroege leven, die van invloed zijn op (stofwisselings-) eigenschappen in het latere leven. Het is een interessant aangrijpingspunt voor het verbeteren van lange-termijn gezondheid op populatieniveau. Verworven kennis uit ons lab toont aan dat minimale aanpassingen aan de voeding in het vroege leven een groot effect kunnen hebben op de kans op de ontwikkeling van overgewicht en diabetes op latere leeftijd. Antwoord op de vraag "hoe werkt het?" zal ons kunnen helpen om in de toekomst (jonge) kinderen (en volwassenen) de beste kans op een gezond leven te bieden. Wij beogen in dit project het programmerend effect van voeding (vroeg in het leven) op de vet- en suikerstofwisseling later-in-het-leven te verklaren. De dierproeven beschreven in dit werkprogramma hebben als doel het mechanisme van programmeren te bestuderen en te ontrafelen. Hierbij maken we onder andere gebruik van muismodellen waarbij specifieke eiwitten betrokken bij het vettransport of -metabolisme uitgeschakeld (knockout) of juist geactiveerd (farmacologische activatie) zijn. Daarnaast maken we gebruik van ratmodellen. Met dit onderzoek willen we op moleculair niveau inzicht verkrijgen in de processen die betrokken zijn bij programmeren. Inzicht in deze processen kan leiden tot de ontwikkeling van nieuwe (medische-) voedingen, geneesmiddelen en/of strategieën voor de behandeling dan wel voorkomen van obesitas en type 2 diabetes.
3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	We verwachten meer inzicht te krijgen in het programmerend proces dat ten grondslag ligt aan de (positieve) lange-termijn invloeden van bepaalde voedingen in het vroege leven. Deze belangrijke kennis draagt bij aan de ontwikkeling van voeding en nutritionele interventies voor kwetsbare doelgroepen (zoals baby's). Dit zal uiteindelijk leiden tot een verbetering van preventie en therapie en daarmee tot een vermindering van de sociale en economische belasting van de samenleving.
3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Binnen dit project maken wij gebruik van muizen en ratten. De maximale aantallen dieren zijn vooraf berekend middels een gevalideerde statistische methode. Het project is onderverdeeld in twee sub-doelen. De berekende aantallen zijn als volgt:

Sub-doel 1) Bepaal het effect van een programmerende voeding op de vet-opname en het vet-metabolisme na kortstondig (niet-programmerend) of langdurig (programmerend) gebruik:

- 1. a. Acute effecten: 48 muizen, licht ongerief
- 1. a. Basale opname karakterisatie: 176 muizen, licht ongerief
- 1. b. Metabolische parameters: 160 muizen, licht ongerief
- 1. e. Galzout karakterisatie: 208 muizen, licht ongerief

Tezamen: 592 muizen met licht ongerief.

Sub-doel 2) Als sub-processen kunnen worden geïdentificeerd (in sub-doel 1), zal de rol van deze processen in programmeren worden onderzocht:

- 2. a. Programmeren in een genetisch model: 528 muizen, licht ongerief
- 2. b. Glucose en vet parameters: 264 muizen, matig ongerief
- 2. c. Absorptie in de twaalfvingerige darm: 200 ratten, matig ongerief
- 2. d. Vet-opname parameters: 528 muizen, licht ongerief
- 2. e. Vet-klaring parameters: 528 muizen, licht discomfort
- 2. f. Cholesterol metabolisme: 624 muizen, licht ongerief
- 2. g. Galzout metabolisme: 624 muizen, matig ongerief

Tezamen: 2472 muizen met licht ongerief, 624 muizen met matig ongerief, 200 ratten met “matig” ongerief. In totaal 3296 dieren.

Indien alle aspecten van beide subdoelen uitgevoerd worden (zie go/no-go criteria) omvat dit project een maximum van 3064 muizen met licht ongerief, 624 muizen met matig ongerief en 200 ratten met matig ongerief. Tezamen gaat het om 3888 dieren, waarvan 79% licht ongerief zullen ervaren en 21% matig ongerief zullen ervaren. Door het gebruik van uitgebreide go/no-go criteria ligt het realistische aantal dieren lager.

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?

Licht ongerief: fokken, individuele huisvesting voor een beperkt aantal handelingen, beperkt aantal toedieningen, beperkt aantal non-invasieve metingen, kleine operatie, beperkte bloedafname. Deze handelingen dragen voor circa 79% bij.

Matig ongerief: uitvoering van experimenten met matig ongerief, operaties met matig ongerief, operatief aanbrengen van verblijfscanule, infusie met herhaalde bloedafname, huisvesting in kooi met bewegingsbeperking. Deze handelingen dragen voor 21% bij.

Binnen dit onderzoeksproject wordt gewerkt met diermodellen die gevoelig zijn voor overgewicht, insuline resistentie en type 2 diabetes. De muizen zullen o.a genmutaties dragen die ook bij de mens voorkomen. Omdat het genoom van de mens en de muis in hoge mate vergelijkbaar zijn, zijn ook de gevolgen van de modificaties goed vergelijkbaar. Over het algemeen zullen de dieren gezond zijn en zal een speciaal dieet en/of een stressfactor nodig zijn om de ziekteverschijnselen op te wekken. De diëten worden

goed geaccepteerd door de dieren. De combinatie erfelijkheidsfactoren en dieet *an sich* veroorzaakt in de regel geen lijden. Het is echter mogelijk dat het effect van het transgen tevoren niet goed wordt ingeschat, omdat de effecten alleen kunnen worden beredeneerd op grond van verwachte genfunctie.

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

Licht ongerief: 79%
Matig ongerief: 21%

Zie het kader 3.3 en 3.4 ‘ Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?’ voor nadere toelichting van de verdeling van de verwachte ernst, de exacte berekende aantallen en het daaropvolgende percentage.

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

Dood in het kader van de proef. De dieren worden op humane wijze geëuthanaseerd. De organen en weefsels zullen uit het karkas worden gehaald, waarna de monsters uitgebreid geanalyseerd worden.

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.

Het is (nog) niet mogelijk om het verloop van obesitas en diabetes uitsluitend *in vitro* (d.w.z. in weefsel buiten het lichaam) of *ex vivo* (d.w.z. in organen buiten het lichaam) te bestuderen. Obesitas is een complex ziektebeeld, waarbij verschillende metabole processen en omgevingsfactoren een belangrijke rol spelen. Ook voor veel aspecten van diabetes, het metabool syndroom en metabool programmeren geldt dat de betrokken processen op dit moment nog niet te onderzoeken zijn zonder een intacte interactie tussen verschillende organen en weefsels. Tegenwoordig beschikken we over muis- en ratmodellen die gevoelig zijn voor het ontwikkelen van o.a. obesitas, type 2 diabetes en gerelateerde metabole ziekten. Deze diervrije modellen zijn doorgaands uiterst geschikt voor onderzoek naar programmeren, en maken het mogelijk om een stap verder te gaan om de rol van voeding en omgevingsfactoren bij programmeren gedetailleerd te kunnen begrijpen.

Proefdiervrije alternatieven bestaan op dit moment nog niet voor het voorgestelde onderzoek, omdat het hele organisme in zijn normale fysiologische context betrokken is en bestudeerd moet worden. Geïsoleerde cellen of organen voldoen hier niet aan. Ook (niet-zoog-)dieren met een eenvoudiger bouwplan dan de muis of rat zijn ongeschikt, omdat fysiologische regelprocessen te veel afwijken van die van de mens, waardoor de resultaten onvoldoende te vertalen zijn naar de mens.

Bepaalde eigenschappen van voeding worden onderzocht in ons lab zonder proefdieren. Daar waar biologische (deel)processen

in celkweek (zonder dieren of weefsels buiten het lichaam) kunnen worden bestudeerd, zal dat ook gedaan worden. Genetisch gemodificeerde dieren kunnen overigens ook een belangrijke bijdrage leveren aan dergelijke celkweekstudies, omdat van deze dieren cellen kunnen worden afgeleid die het bestuderen van bepaalde biologische processen mogelijk maken.

4.2 **Vermindering**

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

Statische berekeningen (o.m. groeps-grootte analyse) worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. Uiteraard wordt de uitgebreide ervaring, die reeds binnen ons laboratorium is opgedaan, meegenomen bij deze berekeningen. Experimenten worden altijd gefaseerd en in wetenschappelijk-onderbouwde volgorde uitgevoerd, met hierin duidelijk geformuleerde Go/No-Go criteria, zodat er geen niet-noodzakelijke proeven worden uitgevoerd. Daarnaast wordt er in dit voorgestelde onderzoek veelvuldig gebruik gemaakt van niet-invasieve metingen met een laag ongerief, waardoor herhaalde metingen gedaan worden aan hetzelfde dier. Meerdere metingen in hetzelfde dier verminderen het totaal benodigde aantal dieren substantieel. Een voorbeeld van een non-invasieve meting is de analyse van lichaamscompositie d.m.v. röntgenstraling of MRI, in tegenstelling tot het chemisch analyseren van het karkas na opoffering. Door het veelvuldig toepassen van niet-invasieve methodieken kunnen we de voortgang van het ziektebeeld beter in kaart brengen en hoeven er dus op minder tijdstippen dieren te worden opgeofferd.

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.

Binnen dit voorgestelde project zullen bepaalde methodieken zoals galcanulatie terminaal (en onder verdoving) worden uitgevoerd in plaats van met een verblijfscanule. Het dier zal hierdoor niks voelen van de meting. Dit levert een substantiële verfijning op ten opzichte van onderzoek die gebruik maakt van een verblijfscanule voor het meten van galvorming (waarbij het dier wakker is). Metingen die niet terminaal uitgevoerd worden, worden indien mogelijk gedaan m.b.v. niet-invasieve methoden met een laag niveau ongerief. De proeven zullen uitsluitend uitgevoerd worden in muizen en ratten, en de experimentele opzet is erop gericht om ongerief en stress tot een minimum te beperken. Tijdens operaties en pijnlijke procedures zullen te allen tijde pijnstilling en anesthesie toegepast worden. De uitgebreide ervaring van onze technici leveren substantiële verfijning door het minimaliseren van ongerief tijdens en na operaties. De kennis en expertise opgebouwd uit het onderzoek naar deze zoogdieren is groot, waardoor er zeer ruime ervaring aanwezig is die toegepast wordt om ongerief zo veel mogelijk te voorkomen bij alle handelingen. De handelingen noodzakelijk voor dit onderzoek zullen uitsluitend uitgevoerd worden door competente en zeer ervaren technici en onderzoekers. Wij kiezen binnen dit onderzoek voor de muis en rat ter verfijning van het onderzoek, omdat uit uitgebreide data is gebleken dat muizen en ratten uitermate geschikt zijn om biologische processen, die ook plaatsvinden bij de mens, in een compleet organisme te bestuderen.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen

Niet-invasieve metingen worden gedaan om het ontwikkelende ziektebeeld tijdig te identificeren. Hierdoor kunnen dieren tijdig worden opgeofferd om onnodig lijden te minimaliseren. Goede monitoring zal bovendien helpen te voorkomen dat het vooraf vastgestelde ongeriefniveau wordt overschreden. Adequaat gebruik van anesthesie wordt toegepast, waardoor ongerief bij metingen zo veel mogelijk voorkomen wordt. Daarnaast wordt aandacht gegeven aan een spoedig herstel na operaties d.m.v.

[

voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

extra warmte en zacht voer. Het welzijn van de dieren wordt geregistreerd.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

10 mei 2016

Beoordeling achteraf

Nee

Andere opmerkingen

Nee