



## Niet-technische samenvatting 2016802

**1 Algemene gegevens**

- 1.1 Titel van het project | Netwerk eigenschappen van neuraal weefsel |
- 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar |
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Neuronale netwerken; elektrofysiologie; hypoxie; lewy bodies; in vitro |

**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
- 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)
- | De hersenen worden op verschillende niveaus bestudeerd, vooral op globaal (het cognitieve) niveau en heel gedetailleerd (op cellulair niveau). Daartussen ligt echter een niveau, het netwerk niveau, waarop zich zeer relevante processen afspelen die vaak onderbelicht blijven. Dit heeft tot gevolg dat goede mogelijkheden voor therapie soms niet worden gezien of herkend. Om hierin inzicht te krijgen, bekijken we drie relevante modellen op het netwerk niveau: hypoxie, geheugen/ Lewy bodies en hyper-exciteerbaarheid. Samen geven deze modellen goed inzicht in de mechanismen die spelen op het netwerkniveau en ontstaat een goed beeld van de omstandigheden waaronder bepaalde scenario's zich kunnen voltrekken.

Hersencellen afkomstig van pasgeboren ratten worden gekweekt op multi elektrode arrays. Dat zijn glazen kweek schaaltes met een groot aantal elektroden in de bodem, waarmee elektrische activiteit van de hersencellen, de "neuronen", kan worden gemeten. Dit doen we om te bepalen hoe de neuronen en de verbindingen daartussen, de "synapsen", functioneren in een netwerk van neuronen. We kijken met name naar de effecten van zuurstofgebrek (hypoxie) en naar de vorming van Lewy bodies (LBs) op het functioneren van zenuwcellen en synapsen. Daarnaast kijken we naar netwerk exciteerbaarheid. Hieronder wordt nader ingegaan op hypoxie, Lewy body vorming en exciteerbaarheid.

Hypoxie- In de kern van een herseninfarct sterven alle cellen snel door het ontbreken van zuurstof en voedingsstoffen. Meestal is er om de kern van het infarct een schil waarin nog wel enige doorbloeding overblijft en de cellen niet direct afsterven, de penumbra. De energievoorziening in deze schil is echter zo gering dat hierin weinig of geen activiteit wordt waargenomen. In de dagen na het infarct ontwikkelt deze schil zich richting herstel, of de toestand verslechtert en de penumbra wordt deel van de kern. Het is niet goed bekend welke factoren de ontwikkeling van de penumbra bepalen. Hypoxie leidt in de hersenen al snel tot het uitvallen van synapsen. Hierdoor daalt de hersenactiviteit snel. Het is voor hersencellen van vitaal belang dat ze actief zijn, en de sterke daling van de neurale activiteit tijdens hypoxie zou kunnen leiden tot uiteindelijke celdood. Inzicht in het normale functioneren van het brein, eventueel in combinatie met farmacologische manipulatie (bv activiteitsverhoging of juist activiteitsverlaging), kan leiden tot verbeterde behandeling van de gevolgen van hypoxie na stroke of na een hartstilstand. Recent onderzoek laat zien dat te lage activiteit in de fase voordat celsterfte optreedt ook kan leiden tot hyperexciteerbaarheid. Dat is een toestand waarin een kleine stimulus kan leiden tot een hele grote reactie van de neuronen. Manipulatie van de hoeveelheid activiteit is daarom ook relevant voor ziektes zoals Epilepsie of de ziekte van Parkinson, waarbij hyperexciteerbaarheid een belangrijke rol speelt.

LBs (geclusterde eiwitten, vooral bestaande uit  $\alpha$ -synucleïne) worden op grote schaal gevonden in de hersenen van patiënten die lijden aan Lewy body demantie. De fysiologische relatie tussen LBs en geheugen problemen is echter onduidelijk, wat de ontwikkeling van therapieën tegen deze ziekte ernstig belemmert. Recent onderzoek heeft aangetoond dat ook gekweekte neuronale netwerken geheugen sporen vormen van externe inputs (korte elektrische stimuli via een van de elektrodes), en dat dit vermogen tijdens de vorming van LBs verdwijnt, mogelijk omdat  $\alpha$ -synucleïne kan interfereren met synaptisch functioneren. Diepere kennis van de mechanismen achter geheugenwerking en mogelijke verstoringen door  $\alpha$ -synucleïne, kan leiden tot nieuwe mogelijkheden voor behandeling van Lewy body demantie.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

Diepere kennis van de mechanismen achter geheugenwerking en mogelijke verstoringen door bijvoorbeeld alfa-synucleïne (een eiwit dat in een bepaalde vorm veel voorkomt in de hersenen van mensen met demantie), schept wellicht nieuwe mogelijkheden voor, of vergroot de efficiëntie van de behandeling van bijvoorbeeld Alzheimer of Lewy body demantie. Inzicht in het normale functioneren van het brein, eventueel in combinatie met

farmacologische manipulatie, kan ook leiden tot verbeterde behandeling van de gevolgen van hypoxie na stroke of na een hartstilstand, en bepaalde ziektes zoals Epilepsie of de ziekte van Parkinson ]

- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? [Er zullen maximaal 600 ratten pups gebruikt worden in de periode van 5 jaar ]
- 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? [Ratten pups worden zo snel mogelijk na de geboorte op snelle en humane wijze gedood ]
- 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? [licht ]
- 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop? [Alle ratten pups worden gedood ten behoeve van het verzamelen van hersencellen. ]

## 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. [Omdat neuronen niet delen kan niet worden gewerkt met cellijnen. Er bestaan wel bepaalde cellijnen die enige morfologische overeenkomst hebben met neuronen, maar deze vertonen geen neurale activiteit. In dit onderzoek is neurale activiteit essentieel. Ook is er ontwikkeling in het gebruik van geïnduceerde stamcellen die tot neuronen kunnen worden gedifferentieerd. Deze techniek staat echter nog teveel in de kinderschoenen om in de geplande experimenten te worden gebruikt. ]
- 4.2 **Vermindering**  
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. [Voor de celkweek wordt gebruikgemaakt van pasgeboren Wistar ratten die worden gefokt in de proefdier faciliteit van de UT. In Twente is een eigen fok van ratten en veel ervaring met het kweken van neuronen. De in kweek gebrachte cellen worden in leven gehouden in een vloeistof die alle benodigde voedingsstoffen bevat. We spreken dan van cellen *in vitro*.  
  
De gekozen *in vitro* benadering minimaliseert de behoefte aan levende proefdieren. Door de gekozen *in vitro* benadering kunnen veel meer (ongeveer tien keer zoveel) neuronale netwerken worden gerealiseerd dan het aantal proefdieren. Hierdoor kunnen veel experimentele condities worden getest met een relatief klein aantal proefdieren. ]
- 4.3 **Verfijning**  
Verklaar de keuze voor de [Voor het onderzoek is het nodig dat op eenvoudige wijze elektrische activiteit kan worden gemeten van veel neuronen, dat de cellen onder de microscoop

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

kunnen worden bekeken en dat ze eventueel kunnen worden behandeld met bepaalde chemische stoffen. Het gebruik van in vitro netwerken op multi elektrode arrays voorziet in deze behoefte. Het is essentieel dat in kweek gebrachte neuronen netwerken vormen met elkaar. Daarvoor moeten ze opnieuw uitgroeien, en (synaptische) verbindingen aangaan. Dit lukt alleen met cellen van net geboren dieren. |

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

Donor pups worden op de dag van geboorte gedecapiteerd. Twee pups worden bij de moeder gehouden om de zorgdrang te verlichten. |

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

| 14 februari 2017 |

Beoordeling achteraf

| Nee |

Andere opmerkingen

| Nee |