

HEEFT EEN RAT BOEDDHANATUUR?

Heeft een rat Boeddhanatuur?

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar in de Proefdierkunde aan het UMC St Radboud, op vrijdag 7 april 2006

door prof. dr. J. Ritskes-Hoitinga

Vormgeving en opmaak: Nies en Partners bno, Nijmegen
 Drukwerk: Thieme MediaCenter Nijmegen

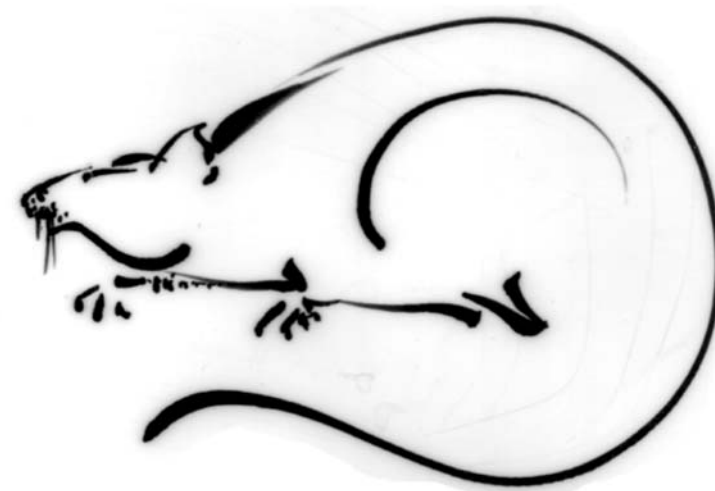
ISBN 90-9020505-5

© Prof. dr. J. Ritskes-Hoitinga, Nijmegen, 2006

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar worden gemaakt middels druk, fotokopie, microfilm, geluidsband of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de copyrighthouder.

Heeft een rat Boeddhanatuur?

Verhoging van de kwaliteit van dierexperimenteel onderzoek loopt parallel met Verfijning en Vermindering.



*Mijnheer de rector magnificus,
 dames en heren, zeer gewaardeerde toehoorders,*

I ACHTERGROND VAN DE TITEL

De titel van mijn inauguratie is gesteld in de vragende vorm van een koan. Zo'n koan is een vraag die de zenmeester zijn studenten opgeeft ter overweging in de meditatie. 'Heeft een hond Boeddhanatuur?' is één van de bekende koans, die ik voor deze gelegenheid heb omgedoopt in 'Heeft een rat Boeddhanatuur?'. De grote uitdaging bij het vinden van de goede oplossing is, dat het antwoord rationeel, esthetisch, psychologisch, ethisch, maatschappelijk én ook nog eens metafysisch juist moet zijn. Mijn echtgenoot deed als jong zenstudent drie jaar over de vraag van de hond en Boeddhanatuur. Laten wij kijken hoever wij komen in deze drie kwartier. Een geruststellende gedachte is dat het zeker niet alleen om het goede antwoord gaat. Ook vele tussenantwoorden kunnen bijdragen aan een verdieping van ons inzicht in de bestudeerde problematiek. Het gaat bij koan-

studie om het scherpen en flexibiliseren van onze geest, het trainen van ons geheugen en het verhogen van onze creativiteit, om zo steeds nieuwe antwoorden op vaak aloude problemen te vinden. Kortom, allemaal aspecten die de zentraditie gemeen heeft met de wetenschap. Het onophoudelijk zoeken van steeds betere antwoorden en het ervaren van grote euforie bij het vinden van nieuwe antwoorden, zijn andere overeenkomsten die alle echte wetenschappers zullen herkennen. Als, soms na weken, maanden of jaren van intensief onderzoek *een kwartje valt*, leidt dat tot grote vreugde.

Laat ik voor de helderheid één voorbeeld geven van een koan en een passend antwoord. Hiervoor gebruik ik graag de koan die centraal stond in het boek *Zen en de kunst van het motoronderhoud*, namelijk *Wat is kwaliteit?* Iedereen hier weet wat kwaliteit is, maar het is erg moeilijk om een antwoord te geven op deze vraag dat esthetisch, psychologisch, ethisch, maatschappelijk en metafysisch juist is. Toch is het beste antwoord dat Pirsig na jaren zoeken vindt net zo eenvoudig als doeltreffend, namelijk...? Liefde. Met dit koan-inzicht weten we dat de kwaliteit van ons leven en werk staat of valt met de liefde waarmee wij het vormgeven.

Tijdens deze oratie zal ik u met liefde en genoegzaam deelgenoot maken van mijn zoektocht naar de vraag of een rat Boeddhanatuur heeft. De antwoorden zijn gebaseerd op mijn kennis en ervaring van het vakgebied Proefdierkunde, waarmee ik sinds 1986 actief bezig ben. Het wetenschappelijke vakgebied Proefdierkunde richt zich op alle aspecten die verbonden zijn aan het gebruik van proefdieren, waarbij het streven naar de hoge kwaliteit van dierexperimenteel onderzoek en het optimale welzijn van proefdieren de kernpunten zijn waar het om draait.

II DEFINITIE VAN DE PROEFDIERKUNDE

Mijn promotor en al vele jaren goede vriend en collega, emeritus-hoogleraar Proefdierkunde aan de Universiteit Utrecht, Bert van Zutphen, heeft de volgende omschrijving van het vakgebied gegeven: Proefdierkunde is een multidisciplinaire tak van de wetenschap die tot doel heeft een bijdrage te leveren aan de kwaliteit van onderzoek en aan het welzijn van dieren. Door uitbreiding van kennis op een groot aantal onderwerpen, levert de proefdierkunde niet alleen een bijdrage aan de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van de resultaten, maar ook aan een vermindering van het ongerief voor de dieren die gebruikt worden voor onderzoek. Daarnaast wordt veel aandacht besteed aan de mogelijkheden tot beperking van het proefdiergebruik. Behalve dat de doelstellingen van de Proefdierkunde betrekking hebben op het verhogen van de kwaliteit van dierexperimenten en de verbetering van de gezondheid en het welzijn van de proefdieren, is ook de maatschappelijke acceptatie een deel geworden van het vakgebied. Jann Hau, een andere vaak geciteerde collega uit Kopenhagen, heeft dit aspect toegevoegd aan de definitie van het vakgebied.

De Proefdierkunde is dus een brede, multidisciplinaire tak van de wetenschap. Het vakgebied omvat een breed scala aan onderwerpen, zoals:

- kennis van de biologie van de diverse diersoorten,
- ziektes die de diverse diersoorten kunnen ontwikkelen,
- de juiste wijze van verdoving van de diverse diersoorten,
- de correcte uitvoering van operaties,
- de goede huisvesting en verzorging,
- de keuze van het juiste diermodel en de proefopzet,
- ethische toetsing van dierexperimenten
- en nog vele andere onderwerpen.

Zo'n tien tot vijftien jaar na de lancering van het boek *The Principles of Humane Experimental Technique*, zijn de kernbegrippen Reduction, Refinement en Replacement uit dit werk gemeengoed geworden in de proefdierkundige wereld en daarbuiten. The three R's, oftewel de drie V's in het Nederlands, staan voor Vermindering, Verfijning en Vervanging. Proefdieren worden voornamelijk gebruikt voor de gezondheid en het welzijn van de mens. Medicijnen die wij gebruiken worden bijvoorbeeld eerst op hun effectiviteit en veiligheid getest in proefdieren, zodat de mens niet aan onnodige risico's wordt blootgesteld. Maar ook de proefdieren moeten niet aan onnodig ongerief worden blootgesteld. Daarom proberen we de drie V's steeds toe te passen. Als een wetenschappelijke vraag of een deel daarvan ook kan worden beantwoord zonder dierproeven, dan spreken we van Vervanging. Als voorbeelden van Vervanging kunt u denken aan computersimulatiemodellen, celkweek in een petrischaal en studies bij mensen. De mens is uiteindelijk het beste model voor de mens.

Vervanging verplicht

Aan het UMC St Radboud verschijnen per jaar meer dan tachtig proefschriften, waarvan er zo'n dertig gebaseerd zijn op dierexperimenteel onderzoek. De overige vijftig proefschriften komen tot stand zonder proefdieren, maar op basis van bijvoorbeeld celkweek en studies met patiënten in de kliniek. Het aantal studies met vervangende alternatieven voor dierproeven is dus al veel groter dan het aantal studies met proefdieren. Wanneer vervangende alternatieven hetzelfde antwoord kunnen geven als een dierproef is het wettelijk verboden om die dierproef uit te voeren. Is Vervanging niet mogelijk, dan wordt gestreefd naar het minimaliseren van het ongerief en het optimaliseren van het welzijn voor de proefdieren. Dat noemen we Verfijning. Kunnen we het aantal gebruikte proefdieren reduceren, dan is er sprake van Vermindering. De Wet op de Dierproeven stelt als eis dat elke dierproef vooraf wordt goedgekeurd door de proefdierdeskundige en de dierexperimentencommissie. De proefdierdeskundige beoordeelt of

het mogelijk is aspecten van de drie V's te implementeren. De dierexperimentencommissie beoordeelt dierproeven op hun ethische merites. Zij beoordeelt of het doel van de proef opweegt tegen het verwachte ongerief van de dieren.

Ter verduidelijking geef ik graag een aantal praktijkvoorbeelden van Vermindering en Verfijning. Maar eerst nog even een korte introductie van een aantal praktische principes.

III ALGEMENE PRINCIPES

Meer met minder

De output van het onderzoek kan bijvoorbeeld worden afgemeten aan:

- het aantal publicaties
- het niveau van het tijdschrift van publicatie
- het aantal keren dat publicaties geciteerd worden
- de hoeveelheden subsidies die er voor onderzoek worden toegekend
- de mate waarin een publicatie bijdraagt aan de verbetering van medicijnen en
- de mate waarin een publicatie bijdraagt aan behandelingsmethoden.

Een zeer belangrijk proefdierkundig principe is dat wij spreken van verhoging van kwaliteit als we met minder dieren dezelfde wetenschappelijke output leveren. Ook bij een gelijkblijvende output en hetzelfde aantal dieren, maar met minder ongerief tijdens de proef, spreken we van een verhoging van de kwaliteit van onderzoek. In de ideale situatie kan een dergelijke verhoging van kwaliteit – minder dieren en/of minder ongerief – heel goed samengaan met een significante verhoging van de wetenschappelijk output. Hier ligt de belangrijkste taak voor ons vakgebied en ik zal met voorbeelden aantonen dat met veel minder dieren en minder ongerief een verhoogde output mogelijk is.

Carlsson en medewerkers (2004) analyseerden het aantal gebruikte proefdieren per publicatie in 14 vooraanstaande tijdschriften in de periode van 1970 tot en met 2000. Het aantal proefdieren per publicatie was met ongeveer 50 procent verminderd. In 1970 werden gemiddeld 110 dieren per publicatie gebruikt, terwijl dat aantal in het jaar 2000 was gedaald tot 57. Bij onderzoek met muizen was de daling zelfs 80 procent. Er is dus van 1970 tot en met 2000 een duidelijke Vermindering in het aantal gebruikte proefdieren opgetreden. Dit betrof niet alleen het aantal per publicatie, maar ook in het totale aantal gebruikte proefdieren (in 1970 circa 132.000 en in 2000 circa 107.000 dieren). Het aantal publicaties verdubbelde in dezelfde periode, van 3264 in 1970, naar 6691 in 2000. Dit duidt erop dat de dieren meer efficiënt worden ingezet. Tegelijkertijd bleek dat ook de proefdierkundige kwaliteit van de artikelen aanmerkelijk was gestegen. Het aantal artikelen dat proefdierkundige factoren specificeerde, zoals de huisves-

ting en verzorging, was van 1970 tot 2000 gestegen van circa 30 naar 60 procent. De vermelding van het gebruik van goed gedefinieerde dieren van hoge kwaliteit liet ook een duidelijke toename zien. In 2000 was het aantal artikelen waarbij een gedetailleerde status van de gezondheid van de dieren was gegeven bijvoorbeeld 10 keer zo hoog als in 1970. Er werden ook meer factoren gerapporteerd die gerelateerd zijn aan het welzijn van de dieren. Dit geeft aan dat ook Verfijning duidelijk zijn intree heeft gemaakt en op een hoger niveau is komen te liggen. Verfijning en Vermindering zijn dus beide opgetreden. Ondanks deze positieve resultaten, bevatte in 2000 maar 20 procent van alle publicaties een gedetailleerde beschrijving van de gezondheidsstatus van de proefdieren. Er is dus nog genoeg ruimte voor verbetering van de kwaliteit, en daarmee voor Vermindering en Verfijning.

IV VERFIJNING – HET BELANG VAN DE VOERSAMENSTELLING

Weten wat ze eten

Dat het belang van de voeding van laboratoriumdieren in de medische en biomedische wereld een ondergewaardeerd onderwerp is, lijdt geen twijfel. Tijdens mijn onderwijs probeer ik studenten bewust te maken van wat een goede proefopzet is en wat er over de proefdiervoeding in artikelen vermeld dient te worden. Ik laat ze onder andere een analyse maken van de punten die wel en niet in bestaande artikelen zijn beschreven. Toen ik vorig jaar juni de bibliotheek indook om nieuwe voorbeelden van recente artikelen te vinden, had ik binnen een uur twaalf artikelen verzameld uit vooraanstaande tijdschriften zoals *The American Journal of Pathology* en *The Journal of Immunology*, waarin de beschrijving van de voeding van de proefdieren volstrekt ontoereikend was. Er wordt bijvoorbeeld in publicaties nog steeds vermeld dat een 'standaardvoer' is gebruikt, zonder nadere aanduiding. Maar dan weten we niet welk type voer aan de dieren is gegeven, van welke fabrikant dit voer afkomstig is, welke samenstelling het voer heeft, of hoe het voer is opgeslagen. 'Standaardvoer' is commercieel verkrijgbaar bij diverse fabrikanten. Iedere fabrikant gebruikt zijn eigen recept om deze voeders samen te stellen, wat onvermijdelijk tot verschillen leidt. Erwtensoen van Unox is anders samengesteld en smaakt anders dan de erwtensoen van California of Honig. Toch heten ze allemaal erwtensoen en zijn ze allemaal gemaakt van erwten. Als eenzelfde type proefdiervoeder door verschillende fabrikanten wordt gemaakt, zullen deze voeders per fabrikant variëren in samenstelling. Het gevolg hiervan is dat er duidelijk verschillende proefresultaten optreden wanneer dergelijke voeders aan de dieren worden gegeven (Ritskes-Hoitinga et al. 1991, Beynen & Ritskes-Hoitinga 1992, Ritskes-Hoitinga & Bollen 1997, Ritskes-Hoitinga & Chwalibog 2003, Ritskes-Hoitinga 2004, Ritskes-Hoitinga & Strubbe 2004). Kunnen we het probleem oplossen door steeds bij dezelfde

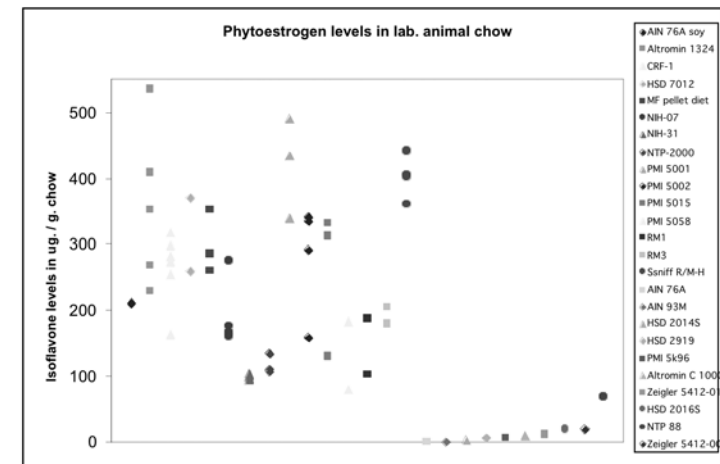
fabrikant het voer te kopen? Nee, ook dat geeft geen garantie. Als basis voor de productie van de proefdiervoeders worden natuurlijke ingrediënten gebruikt. Omdat de natuurlijke producten in hun samenstelling verschillen, varieert ook de samenstelling van de diverse partijen voeders die geproduceerd worden bij dezelfde fabriek. De erwten in de erwtensoep bevatten de ene keer bijvoorbeeld meer eiwit dan de andere keer, wat onder andere samenhangt met de groeiomstandigheden van de planten. Dit betekent dat elke partij voer variaties vertoont, ook al komen ze van dezelfde fabriek en zijn ze met hetzelfde recept gemaakt (Bollen, 2001). Het minste wat je kunt en moet doen als onderzoeker, is de voerfabrikant vragen om een analyse van elke partij voer, zodat je weet wat je hebt gevoerd. Bij onverklaarbare resultaten is de rol van de voeding achteraf niet vast te stellen als je de voersamenstelling niet kent. De voersamenstelling moet ook worden vermeld in publicaties, omdat het voer een bepalende rol kan hebben gespeeld bij het behalen van dit specifieke resultaat. Zo kan er een betere vergelijking plaatsvinden van onderzoeksresultaten.

De Vier V's: Verbetering van Vervanging, Verfijning en Vermindering

Vele onderzoeken, die tijd, geld en dieren hebben gekost, waren niet nodig gebleken als de informatie over de voedingssamenstelling correct en volledig was geweest. Laat ik één voorbeeld geven. Het betrof een studie met ratten uitgevoerd door medische onderzoekers in Denemarken. Het doel van deze studie was om met stamcellen een betere behandeling voor botontkalking (osteoporose) te ontwikkelen. Botontkalking komt veel voor bij vrouwen na de menopauze, doordat er niet langer voldoende van het hormoon oestrogeen wordt aangemaakt. Om dit proces te simuleren, worden bij ratten de eierstokken chirurgisch verwijderd. Daardoor maken ze geen oestrogenen meer aan en treedt botontkalking op. Maar, na afloop van deze proef hadden de ratten zonder eierstokken helemaal geen botontkalking ontwikkeld! En dus viel ook niet aan te tonen of de nieuwe therapie een gunstig effect had gehad. Bij nader onderzoek bleek er een standaard commercieel rattenvoer gebruikt te zijn, waarvan de onderzoekers de samenstelling niet kenden. Wat bleek nu? In dit voer zat veel soja en in soja-eiwitten zitten stoffen die de werking van oestrogenen nabootsen, de zogenaamde phyto-oestrogenen. Doordat deze stoffen de werking van de natuurlijk aanwezige oestrogenen in het lichaam simuleren, kregen zelfs de ratten zonder eierstokken geen botontkalking. Een wetenschapper die botontkalking onderzoekt, moet daarom goed weten wat er in het voer zit, maar dit is in de praktijk helaas zelden het geval. In ons voorbeeld zullen de maximale waarden aan phyto-oestrogenen moeten worden gedefinieerd, om te zorgen dat er een zinvolle proef kan worden uitgevoerd. De volgende grafiek laat zien hoe sterk de concentraties aan phyto-oestrogenen in proefdiervoeders kunnen variëren, zowel tussen de merken en types voeders, als binnen één type voer van dezelfde fabrikant (punten op dezelfde verticale lijn representeren partijen van hetzelfde type voer van eenzelfde fabrikant)

(Nygaard Jensen & Ritskes-Hoitinga, aangeboden voor publicatie). Deze concentraties zijn gebaseerd op de gepubliceerde niveaus in wetenschappelijke artikelen.

Met andere woorden, in het ene 'standaardvoer' kan de concentratie aan phyto-oestrogenen wel 500 keer hoger zijn dan in het andere.



Standaardisatie met meer kwaliteit

De meeste proefdiervoeders worden gemaakt met behulp van natuurlijke ingrediënten. Omdat deze grondstoffen een natuurlijke variatie vertonen, zal er ook altijd een variatie in de voersamenstelling optreden en daarmee in de proefresultaten. Als men deze voer-variatie wil voorkomen, dan wordt er gekozen voor een ander type voer, namelijk het synthetische voer. Synthetische voeders worden gemaakt van gezuiverde grondstoffen, waardoor de samenstelling veel exacter te bepalen is dan bij een voer op basis van natuurlijke ingrediënten (minder gezuiverde grondstoffen). Om een voorbeeld te noemen: in een voer dat gemaakt is op basis van natuurlijke ingrediënten kunnen hele sojabonen zijn verwerkt, terwijl in een synthetisch voer het geïsoleerde soja-eiwit in zuivere vorm wordt verwerkt. De samenstelling van een synthetisch voer is daarmee beter te sturen – en dus een constantere experimentele factor – dan de samenstelling van een voer gebaseerd op natuurlijke grondstoffen. Voor bepaalde doeleinden is het zelfs noodzakelijk om een synthetisch voer te gebruiken. Bijvoorbeeld bij onderzoek naar hele lage vitamineniveaus, omdat de natuurlijke ingrediënten van nature te hoge en te veel variërende gehalten bevatten.

Onderwijs loont

Dat cursisten het onderwijs uit de cursussen proefdierkunde bijzonder serieus kunnen nemen, bewees de Chinese student Ji Zhou. Voordat Ji Zhou aan de cursus deelnam, was zij al betrokken geweest bij een proef met muizen. Het doel van deze proef was om bij muizen vast te stellen wat de invloed van bepaalde voedingsfactoren waren op het optreden van atherosclerose, de vervetting en verkalking van bloedvaten, een belangrijke factor in het ontstaan van hart- en vaatziekten. De gebruikte voeders bestonden uit natuurlijke ingrediënten en dit leidde tot een grote variatie in de resultaten en het deels mislukken van de proef, waarbij onnodig ongerief en het gebruik van onnodig veel proefdieren was opgetreden. Haar onderzoek richtte zich op het aantonen van een mogelijke oorzakelijke relatie tussen het niveau aan homocysteïne in het bloed en het ontstaan van hart- en vaatziekten. Bij de mens was een mogelijke relatie tussen hyperhomocysteïnemie – een te hoge concentratie aan homocysteïne in het bloed – en hart- en vaatziekten ontdekt. In haar promotie-onderzoek wilde ze door het variëren van de gehalten aan bepaalde vitamines en andere stoffen in het voer, het niveau aan homocysteïne in het bloed beïnvloeden. Ji Zhou moest deze hypothese nader toetsen in proeven met apoE-deficiënte muizen, dieren die gevoelig zijn voor de ontwikkeling van hart- en vaatziekten. Ze had via de cursus proefdierkunde in de gaten gekregen, dat dit doel efficiënt bereikt kon worden via het gebruik van synthetische voeders. Na de cursus bleef ze me bestoken met vragen over hoe de synthetische voeders eruit zouden moeten zien. Het was het doel om de voerniveaus aan vitamine B6, B12, foliumzuur en methionine te variëren. Telkens diende ik haar van gedetailleerd advies. Op een gegeven moment belde haar begeleider mij op en vertelde me dat Ji geen enkele proef meer wilde inzetten, voordat ik de voersamenstelling voor akkoord had verklaard. De kwaliteitsnormen van de begeleider lagen niet zo hoog als die van Ji Zhou, maar ze had koppig geweigerd een proef van onvoldoende kwaliteit in te zetten. Zij wilde alleen nog een proef doen met synthetische voeders. Zo'n kwaliteitsspirit en doorzettingsvermogen kom je maar zelden tegen. Enfin, ik werd medebegeleider van Ji Zhou en door de goede voerstandaardisatie kreeg ze een beter resultaat met minder ongerief voor de dieren. Ze toonde aan dat de mate van atherosclerose in de muizen gerelateerd was aan de hoogte van het niveau van homocysteïne in het bloed. Ze heeft haar onderzoek gepubliceerd in het vooraanstaande tijdschrift *Atherosclerosis* (Zhou et al., 2003).

V VERFIJNING – HET BELANG VAN DE HOEVEELHEID VOER

Perfekte porties

Behalve door standaardisatie van het voedsel, kan de kwaliteit van medisch wetenschappelijk onderzoek ook sterk worden verbeterd door het bepalen van de juiste porties.

Diersoorten worden verschillend behandeld in proefdierlaboratoria en daar zijn ook goede redenen voor. Een cavia bijvoorbeeld heeft – net als de mens – de behoefte om vitamine C via de voeding tot zich te nemen, terwijl dat bij een rat niet nodig is. De voersamenstelling wordt aangepast aan de specifieke behoeftes van elke diersoort om een goede gezondheid en welzijn te garanderen. Maar er is iets merkwaardigs aan de hand: alle diersoorten – behalve de knaagdieren – worden namelijk in principe beperkt gevoerd, omdat er bij onbeperkt voeren onder andere vetzucht optreedt. Een varken wordt dan echt zo vet dat dit ten koste gaat van welzijn en gezondheid. Hoewel onbeperkt voeren ook slecht is voor de gezondheid en het welzijn van knaagdieren, heeft dit niet op grote schaal tot aanpassingen geleid. Dit is alleen te verklaren uit praktische en economische motieven.

Onbeperkt – oftewel ad libitum – voer verstrekken aan knaagdieren leidt tot overmatige vetafzet in het lichaam, degeneratieve afwijkingen in hart en nieren, een hogere frequentie in het optreden van kanker, en een verkorte levensduur in vergelijking met beperkt voeren. Bij beperkt voeren krijgt een dier 75-85 procent van de hoeveelheid voedsel die onder ad libitum condities wordt geconsumeerd. Vaak wordt verondersteld dat het onbeperkt aanbieden van ‘verdunde voeders’, voeders met een lagere calorische waarde, dezelfde positieve gezondheidseffecten heeft als beperkt voeren. Helaas, er is bewezen dat voeders met een lagere calorische waarde met dezelfde gezondheidsproblemen samengaan als onbeperkt eten. ‘Light producten’ werken dus bij dieren in ieder geval niet. Een dagelijkse vastenperiode lijkt daarom nodig voor een optimale gezondheid op lange termijn. Momenteel wordt de zogenaamde ‘balansdag’ gepropageerd in tv-spotjes, om ook de bevolking tot matiging aan te zetten bij het eten met als doel de negatieve effecten van vetzucht te voorkomen. Voor bepaalde veiligheidstesten, de bioassays, is het een wettelijke eis dat dieren minimaal twee jaar in de proef blijven. Daarom hebben diverse contractlaboratoria in de VS besloten tot beperkt voeren, omdat de meeste knaagdieren bij onbeperkt voeren niet eens twee jaar oud worden.

Het onbeperkt voeren van knaagdieren die in groepen zijn gehuisvest heeft ook tot gevolg dat er een grote variatie in voeropname optreedt. Van nature zal het ene dier meer eten dan het andere. Daarnaast zijn er ook onder beesten ettertjes te vinden die een ander niets gunnen – niets menselijks is hen vreemd. En deze ettertjes verhinderen dat sommige andere dieren bij de voerruif voldoende kunnen eten. Het gevolg kan een grote variatie in de proefresultaten opleveren. Amerikaanse onderzoekers stellen zelfs dat de onbeperkte voeropname van groepsgehuisveste knaagdieren onze slechtst gestandaardiseerde factor is bij de uitvoering van veiligheidstesten (Keenan et al. 1999). Daar waar de proeven twee jaar moeten duren en er dus beperkt gevoerd moet worden, huisvest men de dieren individueel om te voorkomen dat de één nog steeds te dik wordt en de ander niks krijgt. Omdat knaagdieren van nature sociale dieren zijn en daarmee behoefte hebben aan sociaal contact, is het voortdurend individueel huisvesten een

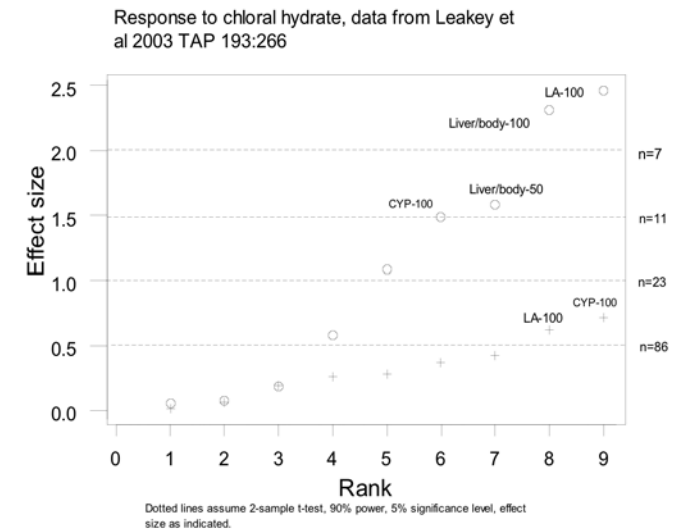
welzijnsprobleem. Dit kan eventueel opgelost worden door de dieren alleen individueel te huisvesten op het moment van voeren. Dit gebeurt maar weinig, omdat dit een zeer arbeidsintensieve methode is.

Meer welzijn met technologie

Om dus zowel aan de gezondheid als aan het welzijn van de knaagdieren tegemoet te komen, zouden de dieren sociaal gehuisvest en beperkt gevoerd dienen te worden. In de landbouwsector zijn al lang voersystemen in de handel voor groepsgehuisveste dieren. Individuele varkens zijn bijvoorbeeld voorzien van een oormerk met een chip, die door de voermachine wordt herkend. Elk dier krijgt zo zijn individuele portie voer, en de computer registreert meteen wat elk dier heeft gegeten. De voermachine is zo gemaakt dat slechts één dier tegelijk bij het voer kan, en dat hij of zij ook niet kan worden weggejaagd door andere kapers op de kust. Door dergelijke systemen kunnen de dieren permanent in groepen worden gehuisvest. In Odense zijn we bezig met de ontwikkeling van een computergestuurd voersysteem voor groepsgehuisveste ratten. Met een onderhuidse microchip in de nek van de rat kan het individuele dier worden herkend en van de juiste hoeveelheid voer worden voorzien. Voor de verdere ontwikkeling van dit veelbelovende prototype voermachine is dringend geld nodig, want investeren in zo'n systeem kan ons (net als in de landbouw) een grote 'return on investments' geven. En niet in de laatste plaats een enorme verhoging van het dierenwelzijn.

VI VERMINDERING - BEPERKT VOEREN VAN KNAAGDIEREN

Door knaagdieren individueel een gestandaardiseerde en beperkte hoeveelheid voer te geven, worden de resultaten betrouwbaarder dan wanneer ad libitum wordt gevoerd. Doordat de resultaten minder variëren zijn minder dieren nodig voor een statistisch significant resultaat. In een publicatie in 2003 maken Leaky en medewerkers een vergelijking van de mogelijke kankerverwekkende effecten van chloraal hydraat, wanneer dit in verschillende concentraties (25, 50 en 100 mg/kg) wordt toegediend aan muizen die ad libitum of beperkt worden gevoerd. Chloraal hydraat is een kalmerend middel (sedativum) dat onder andere wordt gebruikt in de kindergeneeskunde. Leaky kijkt onder andere naar het effect van chloraal hydraat op het levergewicht (in relatie tot het totale lichaamsgewicht), en de invloed op twee leverenzymen (afgekort tot LA en CYP). Op mijn verzoek heeft de statisticus Michael Festing uit Engeland aan de hand van deze publicatie van Leaky een aantal berekeningen gedaan, die in de bijgaande figuur zijn weergegeven. Hij heeft voor elke voercategorie berekend wat het verschil was tussen één bepaalde groep met teststof en de controlegroep zonder. Op basis van dit verschil en de variatie tussen de dieren, heeft hij berekend wat de grootte van het effect is (effect size, weergegeven op de Y-as). Het effect van de diverse groepen is op de X-as weergegeven van laag naar hoog.



De cirkels representeren de groepen die beperkt werden gevoerd, en de plussen de groepen die het voer ad libitum tot hun beschikking kregen. Punten boven de horizontale stippellijnen zijn statistisch significant. Rechts van de horizontale stippellijnen staat het aantal proefdieren vermeld dat nodig is om een dergelijk effect aan te kunnen tonen. Bij de onderste horizontale lijn staan 86 muizen vermeld. Als er 86 muizen per groep worden gebruikt, dan zal er bij ad libitum voeren uitkomen dat de leverenzymen LA en CYP bij een dosis van 100 mg/kg chloraal hydraat significant worden verhoogd ten opzichte van de controlegroep. Als we dit vergelijken met de situatie waarin de dieren beperkt worden gevoerd, dan zijn er opeens nog maar zeven dieren per groep nodig! Kortom: vervangen we onbeperkt voeren door beperkt voeren, dan is er een Vermindering van het aantal proefdieren mogelijk van 92 procent!! Het ligt dus voor de hand om de normale praktijk van het ad libitum voeren van knaagdieren te vervangen door beperkte voeding. Omdat individueel huisvesten vanuit welzijnsoogpunt niet gewenst is, moeten systemen worden ontwikkeld, waarbij de dieren beperkt kunnen worden gevoerd tijdens groepshuisvesting. Uiteraard zal het ontwikkelen en in praktijk brengen van onze voermachine in het begin met meer kosten gepaard gaan. Aan de andere kant staat daar – door een Vermindering van de aantallen dieren tot wel 92 procent – een forse kostenbesparing tegenover. Dergelijke systemen maken het mogelijk om per dier meer geld en tijd te investeren, omdat met veel minder dieren hetzelfde resultaat wordt bereikt. Hierdoor zal ook in de toekomst het aantal benodigde dieren per publicatie verder drastisch kunnen verminderen. Maar de maatschappij zal bereid

moeten zijn geld te investeren, zodat we deze voermachines voor groepsgehuisveste knaagdieren ook echt kunnen ontwikkelen en voor praktijkgebruik geschikt kunnen maken. Er zal ook meer geld per dier moeten worden besteed, omdat elk knaagdier bijvoorbeeld van een onderhuidse microchip moet worden voorzien. Een bijkomend voordeel van deze computersystemen is dat ook veel meer gegevens per dier worden gegenereerd, omdat de voermachine registreert wanneer en hoeveel een dier eet. Er kan daarom ook een evaluatie van het eetgedrag plaats vinden. Daarnaast kan het tijdstip waarop de dieren eten door de machine worden bepaald. Bij sommige onderzoeken, bijvoorbeeld naar de effecten van maaltijdvoeding, moeten de dieren een maaltijd krijgen op van tevoren vastgestelde tijdstippen. Dit gebeurt nu meestal handmatig, en is daarmee arbeidintensief. Via voersystemen kan dit worden geautomatiseerd. Om te bewijzen dat voerrestrictie in de meeste gevallen tot grote voordelen leidt, is natuurlijk meer onderzoek vereist.

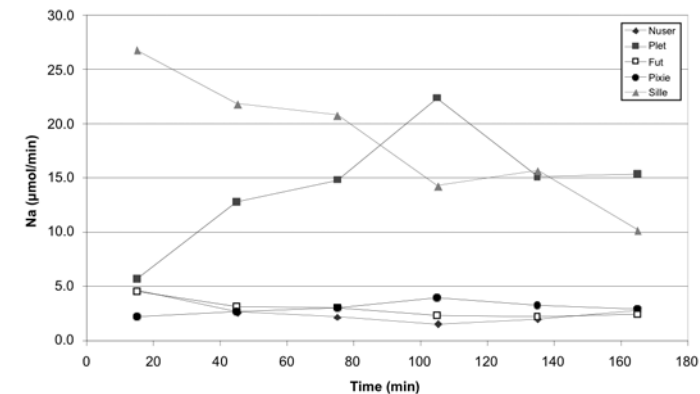
VII VERFIJNING EN VERMINDERING – HUISVESTING, VERZORGING EN TRAINING

Beloning werkt

Het zal duidelijk zijn dat niet alleen de samenstelling van de voeding en de hoeveelheid voedsel een belangrijke invloed hebben. Er zijn vele andere elementen van belang. Kennis van diergedrag en hier gericht gebruik van maken, kan ook leiden tot grote verbeteringen in proefresultaten. Verder moet de huisvesting aangepast zijn aan de essentiële behoeftes van dieren, anders kunnen ze abnormaal gedrag gaan ontwikkelen, en stress laten zien. Via een gerichte training kunnen bepaalde handelingen verlopen zonder stress voor het dier en de persoon die het uitvoert. Iedereen die met een huishond op hondentraining is geweest, weet hoe het belonen met lekkere hapjes ertoe leidt dat de hond op een gegeven moment gaat doen wat jij als commando geeft en dat dit proces dan heel natuurlijk gaat verlopen. Door apen bijvoorbeeld met een banaan te belonen, kun je hen leren hun arm vrijwillig aan te bieden voor bloedafnames. Het trainen van de dieren kost aanvankelijk extra tijd en energie, maar betaalt zich daarna terug in efficiënter werken. Het wegen van een marmoset-aapje gaat bijvoorbeeld twintig keer sneller wanneer je het dier hiervoor gericht hebt getraind (Reinhardt 2003). De geïnvesteerde trainingstijd wordt al na acht tot twintig keer wegen terugverdiend. Daarnaast zorgt deze training ervoor dat de dieren niet of nauwelijks meer gestresst raken door deze handeling, waardoor de resultaten betrouwbaarder zijn. Ook voor de uitvoerder is het veel leuker om met een getraind dier te werken. Ten eerste omdat hij/zij een goede band met het dier opbouwt, en ten tweede omdat het hanteren van de dieren zonder onnodige stress kan plaatsvinden.

Verfijning in holistisch perspectief

Via een voorbeeld van mijn werk in Odense zal ik laten zien dat een goede huisvesting en training niet alleen van belang zijn voor het welzijn van de proefdieren, maar ook voor dat van de dierverzorgers en onderzoekers (Ritskes-Hoitinga et al. 2006). Het is belangrijk om hierin te investeren, vooral ook om betrouwbare resultaten te krijgen. De afdeling medische fysiologie voerde onderzoek uit met beaglehonden om te begrijpen hoe tijdens de groei, de bloeddruk in het lichaam wordt gereguleerd. Hiertoe kregen de honden vanaf een jonge leeftijd een dieet met een laag zoutgehalte. De beaglehonden werden gehuisvest in sociale groepen, omdat de hond een sociaal dier is. 's Middags om twee uur werden alle honden een half uur apart gezet, zodat ze elk dezelfde hoeveelheid van een zoutarm voer konden eten. Daarmee was van iedere hond precies bekend hoeveel zij had gegeten. De volgende ochtend werd de zoutuitscheiding via de urine gemeten. De resultaten van de zoutuitscheiding bleken zulke merkwaardige patronen te laten zien (figuur 3), dat de onderzoeker veronderstelde dat er voerfouten werden gemaakt.

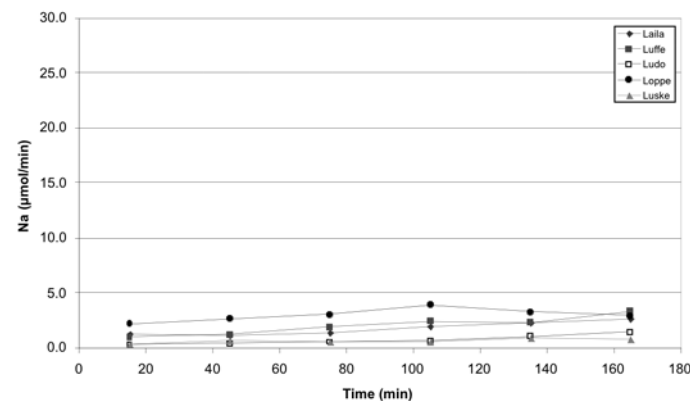


De procedures werden allemaal nagelopen, maar alles was precies volgens plan uitgevoerd. Uiteindelijk werd met een videocamera het gedrag van de dieren ongestoord geobserveerd. Wat bleek nu? De dieren in de groep liepen elkaar voortdurend te stressen. Het gevolg was dat de honden wel tot acht uur na de maaltijd nog konden overgeven, waarbij een ander dan het braaksel nuttigde. Stress heeft immers ook tot gevolg dat de vertering wordt geremd, en dat speelde hier dus ook een grote rol. Dit alles verklaarde waarom er zulke merkwaardige resultaten werden gevonden.

Een hondentrainer werd ingehuurd om met het personeel alle procedures langs te lopen en te kijken hoe een nieuwe groep honden op een meer harmonieuze manier

in het laboratorium kon worden gehouden. Er werd een intensieve socialisatiefase geïntroduceerd, waardoor de honden zeer vertrouwd raakten met de diervverzorgers en de onderzoekers. De dieren werden op vele manieren gestimuleerd. Een hond gebruikt heel graag zijn neus, en via geurkasten met lekkere geurtjes werd in deze behoefte voorzien. De honden kregen speelgoed, en het voeren geschiedde regelmatig via speelkubussen. De dieren kregen een gehoorzaamheidstraining, net als een hond thuis, en als de dieren gedurende een paar weken niet deelnamen aan proeven, dan gingen ze op vakantie. Dat wil zeggen dat ze op de proefdierboerderij werden gehuisvest, waar ze een grote gemeenschappelijke ren buiten tot hun beschikking hadden. De diervverzorgers leerden het gedrag van de honden herkennen, en zodra een van de honden de underdog dreigde te worden in de groep, kreeg deze extra training zodat de hond zichzelf beter in de groep kon handhaven. Het gevolg was een harmonieuze, levendige en speelse hondenroedel.

De onderzoeksresultaten waren nu zoals de onderzoekers verwachtten (figuur 4).



Het welzijn van de dieren was sterk verbeterd en dat spiegelde zich geheel in het welzijn van diervverzorgers en onderzoekers. Het vergt niet veel statistisch inzicht om te zien dat bij deze harmonieuze groep veel minder variatie in resultaten is opgetreden. En zo zijn dus ook hier minder dieren en minder testen nodig om aan te tonen dat er significante verschillen optreden bij diverse experimentele ingrepen. Uiteraard brengt een dergelijke training kosten met zich mee, maar deze kosten wegen ruimschoots op tegen het doen van de vele proeven waarbij de resultaten veel minder of zelfs helemaal niet betrouwbaar zijn.

Kort samengevat: goed opgevoede en getrainde honden, die zich niet vervelen en regelmatig op vakantie gaan, geven betere resultaten. Het lijken wel mensen.

VIII VERFIJNING EN VERMINDERING VIA LITERATUURANALYSE EN IN DE PRAKTIJK

Proefdierkundige meta-analyse noodzakelijk

In de medische wetenschap zijn epidemiologisch onderzoek en meta-analyse van literatuurgegevens de gewoonste zaak van de wereld en reeds lang ingeburgerd. Dit geldt nog niet in het proefdierkundig onderzoek. In een publicatie in het *British Medical Journal* in 2004, hebben Pound en medewerkers een aantal voorbeelden van gepubliceerde dierstudies diepgaand geanalyseerd. Van een aantal studies liet de methodologische kwaliteit duidelijk te wensen over, waardoor het niet mogelijk was om op een betrouwbare wijze de juiste conclusies aan deze studies te verbinden. Het is van essentieel belang dat dierstudies van een optimale kwaliteit zijn, zodat de medicijnen op hun juiste merites worden geëvalueerd. Deze studies zijn ten slotte de voorlopers van de klinische studies, waarin medicijnen getest worden in patiënten. In datzelfde artikel werd beschreven dat er een nieuw medicijn was ontwikkeld, dat bij de mens met ernstige bijwerkingen gepaard ging. Deze bijwerkingen waren in de individuele studies met ratten niet ontdekt. Maar door achteraf de resultaten uit de literatuur van alle rattenstudies rondom de effecten van dit bepaalde geneesmiddel in zijn totaliteit nogmaals te evalueren, bleek dat de bijwerkingen wel degelijk duidelijk zichtbaar waren. Een zorgvuldige en diepgaande analyse van de literatuur is daarom van groot belang om te analyseren of de methodologische uitvoering van studies van voldoende kwaliteit is om de resultaten serieus te nemen. Daarnaast is een diepgaande analyse noodzakelijk om een goed totaalbeeld te krijgen van de risico's, met andere woorden, of het voldoende verantwoord is om een nieuw medicijn of een nieuwe behandeling doorgang te laten vinden naar de kliniek.

Een goede voorbereiding is het halve werk

Van mijn promovendi in Denemarken verlangde ik daarom dat ze eerst diepgaande literatuurstudie verrichtten. Zo wilde Morten Kobaek-Larsen een diermodel ontwikkelen voor het testen van nieuwe behandelingen voor dikkedarmkanker. Er waren in de kliniek al studies uitgevoerd met een experimentele vaccinatietherapie, maar die hadden te weinig positieve resultaten opgeleverd. Daarom werd vanuit de kliniek gevraagd om een goed diermodel, zodat nieuwe behandelingen eerst konden worden getest in dieren. Na een eerste screening van de literatuur leek een transgene muis, het Min-model, het meest voor de hand te liggen. Maar na een grondige en uitgebreide analyse van de plussen en minnen van alle gepubliceerde modellen kwamen we tot een andere conclusie. Een behandeling van ratten met azoxymethaan (AOM) leverde een beter diermodel op, dat wil zeggen een beter met de mens vergelijkbaar model (Kobaek-Larsen et al. 2000). Gezien de kwaliteit van dit literatuuronderzoek kon dit gepubliceerd worden en had de promovendus zijn eerste artikel binnen, zonder één dierproef te hebben gedaan. Nu,

een paar jaar later, blijkt het ook nog eens een frequent geciteerd artikel te zijn, dus de investering dubbel en dwars waard. Uit de wijze lessen van de eerder genoemde statisticus Michael Festing was naar voren gekomen dat het beter is om aan gecontroleerde variatie te doen, dan aan variatie die niet exact bekend is. Dit is te bereiken door in plaats van outbredstammen, waar de precieze genetische achtergrond van elk individueel dier niet bekend is, te werken met een aantal inteeltstammen. Binnen een inteeltstam hebben alle individuele dieren dezelfde genetische samenstelling, die bovendien exact bekend is en beschreven is in de literatuur. Morten deed daarom een studie met drie inteeltstammen, om te kijken of ze dikkedarmkanker zouden ontwikkelen na een behandeling met azoxymethaan. Het bleek dat één van de inteeltstammen van de rat zeer gevoelig was. Ratten van deze stam (de BDIX-stam) ontwikkelden nagenoeg allemaal op een reproduceerbare manier dikkedarmkanker na behandeling met AOM (Kobaek-Larsen et al. 2002). Door gebruik te maken van deze BDIX-stam, waren slechts vier injecties met AOM nodig, terwijl er in de literatuur behandelingschema's voorkwamen waarbij tot 27 injecties waren gegeven. In de literatuur waren veel beschrijvingen van het gebruik van outbredstammen, waarbij het effect van injecties met AOM een zeer wisselend resultaat opleverde. Het opwekken van kanker in de dikke darm lukte in de ene studie bij 90 procent van de dieren, terwijl dit in andere studies slechts bij 30 procent van de dieren optrad. Deze verschillen hangen waarschijnlijk voor een deel samen met de verschillende genetische achtergrond van de dieren. Dat Morten tot een vermindering van het aantal injecties kon komen, valt onder Verfijning, omdat dit minder ongerief voor de dieren met zich mee brengt. Omdat het resultaat van de AOM-behandelingen bij elke studie die Morten deed reproduceerbaar en voorspelbaar was, droeg dit ook bij aan Vermindering van het aantal benodigde dieren. Door grondige literatuurstudie zijn dus minder dieren nodig voor het onderzoek naar dikkedarmkanker en de dieren ervaren bovendien minder ongerief. In menig opzicht dus een belangrijke toename in de kwaliteit van onderzoek.

IX TOEKOMSTVISIE EN DOELSTELLINGEN

Ontwikkeling voedingsmachine

Via een voortdurende inzet om de kwaliteit van dierproeven te verhogen, zal een significante bijdrage aan Verfijning en Vermindering tot stand kunnen komen. Voorwaarde is wel, dat er voldoende tijd, energie en geld in geïnvesteerd wordt. Als de ontwikkeling van een voedingssysteem, waarbij groepsgehuiste knaagdieren beperkt kunnen worden gevoerd, een realiteit wordt, dan is in principe een grote reductie van het aantal benodigde proefdieren mogelijk. In het voorbeeld van Leaky et al. (2003) is gedemonstreerd dat

eenzelfde resultaat met 92 procent minder dieren per groep kon worden bereikt, wanneer werd overgeschakeld van ad libitum naar beperkt voeren. Om aan te tonen dat deze reductie op veel meer terreinen haalbaar is moet veel meer onderzoek gedaan worden. Dit betekent, dat er meer geld voor proefdierkundig onderzoek beschikbaar moet komen. De overheid stelt hiervoor wel wat geld beschikbaar middels het Programma Alternatieven van ZonMW, maar dit budget is veel te beperkt. Van 2000 tot 2004 was hiervoor slechts 1,6 miljoen euro per jaar beschikbaar, en in 2006 is er 1,1 miljoen euro beschikbaar gesteld. Dit zou minstens het dubbele per jaar moeten zijn. Niet alleen om de uitvoering van goede ideeën op het gebied van de drie V's mogelijk te maken, maar ook om het wetenschappelijk niveau van het Nederlands medisch onderzoek op een hoger internationaal niveau te krijgen. De overheid dient hier haar verantwoordelijkheid te nemen omdat de maatschappij hierom vraagt. Natuurlijk roep ik ook hier de farmaceutische industrie op om met ons mee te werken aan kwaliteitsverbetering. Het betreft hier investeringen die in menig opzicht lonen. Als concrete doelstelling voor de komende vijf jaar wens ik het hiervoor genoemde voedingssysteem verder te ontwikkelen en op de markt te introduceren.

Oprichting service-instituut

In navolging van de medische wetenschap, waar epidemiologisch onderzoek en meta-analyse al routinematig worden uitgevoerd, moet ook van al het proefdieronderzoek een diepgaande literatuuranalyse worden verricht. Ik heb een aantal voorbeelden laten zien waaruit blijkt dat zo'n analyse nieuwe, belangrijke informatie oplevert. Dit is goed voor het begrip van de veiligheid van behandelingen voordat die in patiënten worden uitgevoerd, en essentieel om nieuwe ontwikkelingen in de wetenschap versneld te laten plaatsvinden. Als het aan mij ligt, dan komt er zeer binnenkort in Nijmegen een service-instituut voor onderzoekers, dat permanent dergelijke meta-analyses uitvoert. Deze literatuuranalyses zijn gericht op het interpreteren van resultaten van vergelijkbare studies, maar daarnaast wordt een inventarisatie gemaakt van de mogelijkheden tot de drie V's vóór aanvang van dierstudies. Samen met het advies van de proefdierdeskundige, de dierexperimentencommissies en het personeel van het Centraal Dierenlaboratorium zorgt dit voor een optimale onderzoekskwaliteit en optimaal welzijn van dieren in een proef. Op dit moment vinden dergelijke meta-analyses nog veel te weinig plaats.

Cruciale rol Centraal dierenlaboratorium

Het UMC St Radboud heeft als één van zijn doelstellingen voor de komende jaren om de kwaliteit van het onderzoek te verhogen. Dit houdt onder andere in dat het aantal proefschriften en wetenschappelijke artikelen gaat stijgen, maar ook dat de kwaliteit

van de gepubliceerde artikelen nog hoger moet worden. Vanuit de proefdierkunde en de service vanuit het Centraal Dierenlaboratorium wordt hier een belangrijke bijdrage aan geleverd. Op het Centraal Dierenlaboratorium zijn bijvoorbeeld medewerkers aangesteld die zich gespecialiseerd hebben in operaties; dit is te vergelijken met de medische specialisten in het ziekenhuis. Doordat ervaren mensen de operaties uitvoeren, wordt er op de beste manier voor het welzijn van de dieren gezorgd. Daarmee wordt ook het beste onderzoeksresultaat verkregen. Via onderzoek op het gebied van de drie V's, zal de kwaliteit van de dierstudies in de (bio)medische wetenschappen nog meer worden verhoogd. Behalve dat de drie V's tot een betere kwaliteit output bijdragen, zal het ook tot meer plezier in het werk leiden. Goede huisvesting en verzorging verhogen niet alleen het werkplezier van diervverzorgers en biotechnici, maar zullen via een beter resultaat ook het welzijn en succes van de onderzoeker bevorderen.

X HEEFT EEN RAT NU BOEDDHANATUUR?

Voor een goed antwoord is een goed begrip van de vraag een voorwaarde. En volgens mij moet de koan van de hond of rat met Boeddhanatuur breed worden opgevat. De vraag kan ook zo verstaan worden: heeft het dier een goddelijke aard? Dames en heren, mijn antwoord daarop is een volmondig: 'Ja'. Want wat zouden wij als mens zijn zonder dieren? Dit antwoord is rationeel gemakkelijk te begrijpen, maar bevat voor mij ook een belangrijke ethische boodschap. Als ook het dier een goddelijke aard heeft, dan dienen wij ze met het grootst mogelijke respect te behandelen. Ons inzicht en de maatschappelijke opinie eisen dit ook van ons. Hier ligt een probleem, want hoewel de maatschappij eist dat we minder proefdieren gebruiken en meer zorgen voor het welzijn van de proefdieren, wil men lang niet altijd ook betalen voor deze eisen. Dit probleem delen we in de proefdierkunde met de landbouw, waar we ook wel willen dat de dieren het beter hebben, maar waar slechts weinigen bereid zijn er ook iets meer voor te betalen. Met mijn voorbeelden heb ik overigens aangetoond dat in ons vakgebied op termijn zelfs kostenneutraal veel verbeteringen mogelijk zijn. Maar hiervoor zijn op korte termijn wel de nodige investeringen noodzakelijk. In het boek *De Dieren crisis*, pleit de moraalwetenschapper en dierenactivist Michel van den Bosch voor een ethische beschavingsrevolutie, waarin dieren rechten worden toegekend. Meer eerbied voor dieren zal volgens hem resulteren in een menselijker samenleving. Ook hij reikt in zijn boek oplossingen aan die gebaseerd zijn op ons denkvermogen, onze empathie en mededogen, kenmerken waaraan we onze menselijke waardigheid ontleenen. Ik zal mijn leeropdracht naar beste vermogen gebruiken om hieraan bij te dragen.

Is dit nu het goede antwoord op de koan? Mijn zenmeester zegt, ja het is goed, maar niet goed genoeg. Ga door met onderzoek.

DANKWOORD

Dat ik hier vandaag in deze hoedanigheid sta, is mede tot stand gekomen door de belangrijke stimulerende invloed van vele mensen. De invloed van mijn leermeesters in het vakgebied van de Proefdierkunde is van wezenlijk belang geweest voor mijn enthousiasme, professionele begrip en ontwikkeling.

Ten eerste bedank ik de al eerder genoemde Bert van Zutphen: zonder jouw inspirerende colleges was ik waarschijnlijk nooit op het idee gekomen om me in dit vakgebied in te zetten. Jouw intrinsieke interesse in de proefdierkunde, alsmede de openheid voor ethiek en de maatschappelijke discussie zijn voor mij steeds een voorbeeld geweest.

Vera Baumans, proefdierdeskundige Universiteit Utrecht en hoogleraar Proefdierkunde aan het Karolinska instituut in Zweden: jouw stimulerende kracht en onvermoeibaar enthousiasme voor de proefdierkunde zijn door de jaren heen op mij overgedragen. Daarnaast heb je me een geweldige introductie gegeven in het internationale circuit en bestuursleven. Onze reizen samen werden altijd gekenmerkt door hard werken, veel willen bereiken en veel plezier, mooier kan het niet. Ik dank je zeer hiervoor.

Anton Beynen, hoogleraar diervoeding aan de Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht: jouw hoge kwaliteitsgevoel rond het doen van onderzoek heeft mij bewust gemaakt van hoe resultaten van een hoge wetenschappelijke kwaliteit tot stand dienen te worden gebracht.

Per Svendsen, hoofd van het Biomedisch laboratorium in Odense leerde me de goede kneepjes van het chirurgische vak in de biomedische wetenschappen, alsmede vele grondbeginselen rond het gebruik van proefdieren in de medische wereld. Daarnaast zorgde hij ervoor dat ik me in een snel tempo thuis voelde in Denemarken en Scandinavië. Per, tusind tak for alt du har laert mig og alt du har gjort for mig og Rients.

Joop Koopman, mijn voorganger als directeur van het Centraal Dierenlaboratorium: toen ik in Denemarken werkte, hebben we door de jaren heen steeds contact gehouden over velerlei proefdierkundige en managementzaken die spelen op een centraal dierenlaboratorium. Je hebt me steeds van goed en vakkundig advies voorzien. Daarnaast heb je me vanaf september vorig jaar snel ingewerkt in de vele aspecten die bij het management van het Centraal dierenlaboratorium een rol spelen. Veel dank voor het in mij gestelde vertrouwen.

Onderzoeksdirecteur Carel van Os: ik ben je zeer erkentelijk voor de grote inspanningen die jij hebt geleverd om een hoogleraarsfunctie te koppelen aan het directeurschap van het Centraal Dierenlaboratorium.

De Raad van Bestuur van het UMC St Radboud dank ik ook zeer voor het mogelijk maken van de combinatie van deze twee taken. Heit en mem, zonder jullie had ik hier

niet gestaan, letterlijk niet en figuurlijk niet. Jullie stimulerende invloed om goed te leren omdat je daar altijd wat aan hebt, heeft tot gevolg gehad dat ik plezier heb gekregen in veel leren, veel willen weten en daar altijd mee bezig te willen zijn. Daarom is met onderzoek bezig zijn voor mij een groot voorrecht, waarin ik volop aan mijn trekken kom.

Rients, dankzij jouw invloed heb ik heel veel aan zen gehad en veel over het leven geleerd. Onze gezamenlijke zoektocht naar kwaliteitsverbetering in leven en werk is voor mij van onschatbare waarde.

Ik heb gesproken.

REFERENTIES

- Beynen AC, Ritskes-Hoitinga J 'Fatty acid composition of commercial rodent diets' *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 1992, 19, 93-94.
- Bollen PJA. *Nutrition of Göttingen minipigs*. Thesis at the University of Southern Denmark, 2001. ISBN 87-90923-20-0
- Carlsson H-E, Hagelin J, Hau J. 'Implementation of the 'Three Rs' in biomedical research' *Veterinary Record* 2004, 154, 467-470.
- Hau J, Van Hoosier G. *Handbook of Laboratory Animal Science* (2003; 2nd edition). CRC Press.
- Keenan KP, Ballam GC, Soper KA, Laroque P, Coleman JB, Dixit R 'Diet, caloric restriction, and the rodent bioassay' *Toxicol. Sci.* 1999, 52(2 Suppl), 24-34.
- Leaky JEA, Seng JE, Latendresse JR, Hussain N, Allen LJ, Allaben WT. 'Dietary controlled carcinogenicity study of chloral hydrate in male B6C3F1 mice' *Toxicology and applied pharmacology* 2003, 193, 266-280.
- Kobæk-Larsen M, Thorup I, Diederichsen A, Fenger C, Ritskes-Hoitinga J 'Review of colorectal cancer and its metastases in rodent models – comparative aspects with those in humans' *Comparative Medicine* 2000, 50(1), 16-27.
- Kobæk-Larsen M, Fenger C, Hansen K, Nissen I, Diederichsen A, Thorup I, den Bieman M, Vach W, Ritskes-Hoitinga J. 'Comparative studies of the histopathology of azoxymethane-induced colonic tumors in three inbred rat strains' *Comparative Medicine* 2002, 52(1), 50-57.
- Nygaard Jensen M, Ritskes-Hoitinga M. 'Phyto-oestrogens in diets' *Laboratory Animals* (under revision).
- Pound P, Ebrahim S, Sandercock P, Bracken MB, Roberts I. 'Where is the evidence that animal research benefits humans?' *British Medical Journal* 2004, 328, 514-517.
- Reinhardt V. 'Working with rather than against macaques during blood collection' *Journal of Applied Animal Welfare Science* 2003, 6, 189-197.
- Ritskes-Hoitinga J, Mathot JNJJ, Danse LHJC, Beynen AC 'Commercial rodent diets and nephrocalcinosis in weanling female rats' *Laboratory Animals* 1991, 25, 126-132.
- Ritskes-Hoitinga J, Bollen P 'Nutrition of Gottingen minipigs – facts, assumptions and mysteries' *Pharmacology and Toxicology* 1997, 80 (supplement II), 5-9.
- Ritskes-Hoitinga J, Chwalibog A. 'Nutrient Requirements, experimental design and feeding schedules in animal experimentation' In: *Handbook of Laboratory Animal Science*, CRC Press (2nd. Edition). Editors: Jann Hau and Gerald van Hoosier. 2003.
- Ritskes-Hoitinga J. 'Nutrition in laboratory mice' In: *The Handbook of Experimental Animals, The laboratory mouse*. Chapter 28. Editor H. Hedrich. Academic Press. 2004.
- Ritskes-Hoitinga J, Strubbe J. 'Nutrition and animal welfare' In: *The welfare of laboratory animals*. Editor Eila Kaliste. Kluwer Academic publishers. 2004, pp. 51-80.
- Ritskes-Hoitinga M, Bjoerndal Gravesen L, Jegstrup IM. 'Refinement benefits animal welfare and quality of science' 2006, Website van The National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of animals in research. www.nc3rs.org.uk/felasa.
- Russell WMS, Burch RL. *The principles of humane experimental technique* (1959). Methuen, London.
- Vandenbosch, M. *De dieren crisis* 2005, Houtekiet, Antwerpen.

- Van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. *Handboek Proefdierkunde: Proefdieren, dierproeven, alternatieven en ethiek* (2003; 4^e druk). Elsevier Gezondheidszorg, Maarssen.
- Zhou J, Moeller J, Ritskes-Hoitinga J, Larsen ML, Austin RC, Falk E. 'Effects of vitamin supplementation and hyperhomocysteinemia on atherosclerosis in apoE-deficient mice' *Atherosclerosis* 2003, 168, 255-262.
- ZonMW Programma alternatieven voor dierproeven: <http://www.zonmw.nl/nl/programmas/programma-informatie/alternatieven-voor-dierproeven.html>