



Niet-technische samenvatting 20171444-2

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Onderzoek naar zeldzame DNA afwijkingen met behulp van zebravissen
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Metabole ziekten, zebravis, genetica

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project. <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> 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)	Bij steeds meer zieke kinderen waarvan de oorzaak van de ziekte onbekend is wordt er door middel van Next Generation Sequencing in het DNA naar de oorzaak gezocht. Hiermee kunnen er zeldzame veranderingen in het DNA gevonden worden. Deze veranderingen noemen we mutaties. Wij onderzoeken het verband tussen de mutaties, de gevolgen ervan en ziekteverschijnselen. Het onderzoek richt zich met name op stofwisselingsziekten. Nadat we veel onderzoek in het laboratorium hebben gedaan onderzoeken we de verandering van het DNA in een zebravis. Het voordeel is dat we in relatief weinig tijd het DNA van deze dieren muteren en zo kunnen bekijken wat het effect is van de mutatie op de gezondheid en het gedrag van het dier. Zo dragen we bij aan een goede definitie van onbekende ziekten en testen we manieren om deze patiënten te behandelen. De testen doen we uiteindelijk in een model voor de ziekte in de zebravis.
---	---

<p>3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?</p>	<p>Wij verwachten in de komende jaren 3 of meer ziekten te beschrijven en voor deze ziekten behandelmogelijkheden in dierproeven te hebben onderzocht.</p>
<p>3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?</p>	<p>Wij zullen zebravissen gebruiken, ca. 3000 stuks</p>
<p>3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?</p>	<p>De hele jonge zebravissen zullen bestudeerd worden in een apparaat waarmee je beweging kunt zien. Ook zullen we ze gebruiken voor bloedafname en dood maken om de weefsels te kunnen bestuderen.</p>
<p>3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?</p>	<p>Bij het maken van zebravissen met mutaties halen we van alle vissen stukjes weefsel van de staart af om het DNA te onderzoeken. De dieren ondervinden hier licht ongerief van. De dieren met mutaties kunnen verschijnselen krijgen die de humane patiënt ook heeft, bijvoorbeeld ooglenstroebeling, epilepsie en aanlegstoornissen van de organen. Van de genetisch gemodificeerde dieren (heterozygoot en/of homozygoot; dit is 50% van het totaal aantal proefdieren) baseren we het verwachte ongerief op basis van de symptomen van de patiënten. Van deze heterozygote en/of homozygote vissen verwachten we bij 25% licht ongerief, bij 40% matig en bij 35% ernstig. Wanneer er gekeken wordt naar het totaal aantal dieren zal het dus gaan om 12,5% met licht ongerief, 20% matig en 17,5% ernstig ongerief. We dragen er zorg voor dat de dieren zo min mogelijk ongerief ondervinden, echter kan het zijn dat bepaalde fenotypes ernstig tot uiting komen en het overlijden van de vis tot gevolg hebben. Dit is bijvoorbeeld het geval bij ernstige epilepsie. Tijdens de pilot experimenten zullen de ernst van het ongerief en de leeftijd waarop het fenotype tot uiting komt vastgesteld worden. Hierdoor kunnen we tijdens de vervolg experimenten de dieren waarbij een ernstig fenotype wordt verwacht nauwlettend in de gaten houden tijdens de kritieke dagen. Ook zullen we wanneer mogelijk ingrijpen en HEP toepassen. Bijvoorbeeld: als we het fenotype verwachten op 20dpf, maar een vis vertoont het fenotype op 15dpf en we verwachten dat de vis hierdoor vroegtijdig komt te overlijden, dan zullen we HEP toepassen. We onderzoeken het gedrag van de zebravissen door het registreren van hun bewegingen. In eerste instantie doen we dit met jonge larven (die niet meetellen als proefdier), zo nodig ook met oudere larven (wel proefdieren). Na deze experimenten worden de dieren gedood zodat we het weefsel kunnen gebruiken voor metabole metingen. Om nieuwe behandelingen van de erfelijke ziekten te onderzoeken zullen we stoffen toevoegen aan het water waarin de vissen zwemmen. In eerste instantie doen we deze proeven met de jonge larven. Als dat succesvol is doen we deze proeven ook met oudere larven of vissen. We verwachten weinig bijverschijnselen bij deze proeven, maar als deze optreden (de larven/vissen gaan dood hebben ongerief van de behandeling) dan stoppen we met de behandeling van het betreffende medicijn. Bij deze experimenten kan het nuttig zijn om bloed af te nemen om hierin het effect te meten van de behandeling. We gebruiken hiervoor een methode onder verdoving waarbij het dier in leven wordt gelaten.</p>
<p>3.6 Wat is de bestemming</p>	<p>De dieren zullen worden gedood om hun weefsels te kunnen bestuderen</p>

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.

We proberen zoveel mogelijk te onderzoeken in gekweekte cellen. Echter kunnen we hierin bepaalde ziekteverschijnselen, zoals epilepsie, niet zien. Het gaat bij ons onderzoek het verband tussen een genetische mutatie en de gevolgen hiervan in de verschillende weefsels en het effect op een volledig organisme. Dit kan niet in een cellijn worden bestudeerd, omdat deze situatie teveel afwijkt van de in vivo situatie.

4.2 **Vermindering**

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

In eerste instantie zullen de studies uitgevoerd worden in larven (tot 5dpf zijn dit geen proefdieren). Onder deze studies vallen het meten van de beweging, het bestuderen van de klinische verschijnselen en de metabole studies. Pas als uit deze studies blijkt dat deze leeftijd te vroeg is om desbetreffende mutant te onderzoeken, doordat het fenotype zich op een latere leeftijd ontwikkelt, zullen we de larven laten doorgroeien en de studies op een latere leeftijd uitvoeren. De studies zullen zoveel mogelijk met dezelfde dieren uitgevoerd worden, bijvoorbeeld door eerst een bewegingsexperiment uit te voeren en dezelfde dieren te gebruiken voor de metabole metingen.

4.3 **Verfijning**

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

De erfelijke eigenschappen van zebravissen lijken op die van de mens, daarom is het een goed model voor dit onderzoek. Het is relatief makkelijk om mutaties in te brengen in zebravissen, waardoor er weinig dieren nodig zijn om stabiele mutant lijnen te verkrijgen. Ook zorgen zebravissen voor veel nakomelingen (ongeveer 50 embryo's per paartje), zodat hiervoor weinig dieren ingezet hoeven te worden. We verwachten dat voor verschillende te testen genen/mutaties het fenotype zich zal ontwikkelen voordat de larven de grens proefdier (5dpf) bereiken. Dat wil zeggen dat voor die mutaties we de studies uit kunnen voeren op larven, wat de zebravis het meest verfijnde diersoort maakt voor dit project. Daarnaast hebben we de humane eindpunten voor de zebravissen duidelijk beschreven, zodat we ernstig ongerief kunnen beperken.

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

De proeven zullen uitgevoerd worden door ervaren mensen, zodat de dieren geen onnodig ongerief zullen ondervinden. De experimenten die voor eventuele stress kunnen zorgen bij de zebravissen worden onder verdoving uitgevoerd, denk hierbij aan het bestuderen van de uiterlijke klinische verschijnselen. Ook zullen de dieren bij de bewegingsstudies weinig ongerief ondervinden, omdat deze uitgevoerd worden in een geoptimaliseerd systeem bedoeld voor dit doeleinde (Viewpoint Zebrabox). Het welzijn van de volwassen zebravissen worden door de dierverzorgers gemonitord en bij ongerief worden de onderzoekers op de hoogte gesteld. Als dit het welzijn van de dieren negatief beïnvloed, bijvoorbeeld doordat ze niet meer kunnen voeden of abnormaal zwemgedrag vertonen, wordt er besloten de dieren af te voeren.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

17-05-2018

Beoordeling achteraf

Ja

Andere opmerkingen

Nee