



## Niet-technische samenvatting 2015290

## 1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project | De rol van verlengde CGG herhalingen in erfelijke neurologische aandoeningen |
- 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar |
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Fragiele X syndroom, FXTAS, erfelijke neurologische aandoeningen, verlengde herhalingen, muizen |

## 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)
- Het fragiele X syndroom (FXS) is de meest voorkomende erfelijke oorzaak van een verstandelijke beperking bij jongens. Het aantal patiënten in Nederland is circa 2500. Naast de verstandelijke beperking wordt FXS gekenmerkt door de aanwezigheid van epilepsie en ernstige gedragsproblemen zoals autisme, ADHD en agressie (sociaal onangepast gedrag). Het zijn met name deze gedragsproblemen die leiden tot ontwrichting van gezinnen met FXS kinderen, waardoor kinderen vaak in een instelling moeten worden geplaatst. Het FXS ontstaat door een grote verandering (volle mutatie) in het *FMR1* gen.
- Recent is gevonden dat bij mannen met een kleine verandering in het *FMR1* gen (premutatie) er na het 50<sup>e</sup> levensjaar een ernstig neurologisch syndroom, fragiele X- geassocieerd tremor ataxie syndroom (FXTAS) kan ontwikkelen. Hoe ouder mannelijke premutatie dragers worden, hoe groter de kans dat de ziekte toeslaat. In Nederland zal 1:3000 mannen na hun 50<sup>e</sup>

levensjaar FXTAS ontwikkelen. Wereldwijd zijn er 20 miljoen premutatie dragers. Mensen met FXTAS hebben last van trillingen (tremor) en/of een onevenwichtige motoriek (ataxie). De ernst van FXTAS varieert per individu van milde klachten tot rolstoel-afhankelijk binnen twee jaar na het ontstaan van FXTAS vaak gevolgd door een ernstige vorm van dementie met uiteindelijk de dood tot gevolg.

Ons onderzoek is gericht op het verwerven van inzichten in het ontstaan van FXS en FXTAS waarbij we ons specifiek richten op de gevolgen voor de zenuwcellen in de hersenen. Kennis over de oorzaak van beide neurologische ziekten bij de mens kan leiden tot de ontwikkeling van nieuwe medicijnen of andere vormen van therapie. Onze doelstellingen zijn 1) fundamenteel wetenschappelijk onderzoek om inzicht te verkrijgen hoe zenuwcellen functioneren onder normale omstandigheden en bij ziekten zoals FXS en FXTAS en 2) testen van interventies op hun potentie tot het herstellen van de verstoorde zenuwcel functie in cel- en muizenmodellen voor FXS en FXTAS.

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

Wetenschappelijk belang: Het verkrijgen van nieuwe inzichten in de moleculaire processen in zenuwcellen die een rol spelen bij FXS en FXTAS en het bestuderen van mogelijke opties om de verstoorde zenuwcel functie te herstellen in cel- en muizenmodellen voor FXS en FXTAS.

Maatschappelijk belang: Families waarin een verlengde CGG herhalingen in het *FMR1* gen voorkomt worden geconfronteerd met (klein)kinderen met een ernstige verstandelijke beperking (fragiele X syndroom) en grootvaders die na hun 50<sup>e</sup> levensjaar een ernstig neurologisch syndroom kunnen ontwikkelen (FXTAS). Dit heeft een enorme impact op deze families met als gevolg dat de (klein)kinderen door hun gedragsproblematiek vaak in een instelling moeten worden geplaatst en de grootvaders ernstig in hun dagelijks functioneren worden belemmerd, dusdanig dat zij hun professionele werk vaak niet meer uit kunnen voeren.

Meer inzicht in het ontstaan van deze erfelijke neurologische ziekten en kennis over de moleculaire mechanismen in zenuwcellen die ten grondslag liggen aan deze ziekten zou kunnen leiden tot aanknopingspunten voor nieuwe vormen van therapie. De verkregen kennis zal uiteindelijk vertaald kunnen worden in nieuwe diagnostiek, preventie en behandeling van patiënten.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

10238 Muizen inclusief 600 Pups plus 6000 embryo's

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

In tegenstelling tot het ziektebeeld bij de mens (FXS: verstandelijke beperking/ernstige gedragsafwijkingen en FXTAS: tremor/ataxie) is er in de bestaande muizenmodellen nauwelijks sprake van ongerief. We schatten de kans <<1% dat dit bij de nieuwe GA lijnen zal optreden en indien het optreedt zal dit kortdurend van aard zijn. Mocht het ongerief ernstig zijn dan is dit een reden het betreffende dier (cq lijn) te doden en van verdere vervolgentoelating af te zien. Ongerief kan ook ondervonden worden door de noodzakelijke operaties die altijd onder volledige anesthesie en met toepassing van peri-operatieve pijnstilling plaatsvinden. Totaal ongerief zal nooit meer dan matig zijn en altijd kortdurend.

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

Voor alle dieren in de verschillende bijlagen bij elkaar: cumulatief ongerief van 50 % licht, 50 % matig kortdurend.

Bijlage	Aantal dieren	Ongerief
1	2288 (incl 600 pups)	Licht: 2138 (incl. pups) Matig: 150

2	750 (+ 6000 Embryo's)	Licht: 750
3	7200	Licht: 2200 Matig: 5000
totaal	10238 (incl 600 pups)	Licht: 5088 Matig: 5150

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

Uiteindelijk zullen alle dieren worden geëuthanaseerd ( o.a. cervicale dislocatie) en zullen de organen worden gebruikt voor moleculaire, biochemische en morfologische analyse.

## 4 Drie V's

### 4.1 Vervanging

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdier vrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Er wordt gewerkt vanuit een onderzoeksvraag die betrekking heeft op een bestaand ziektebeeld bij de mens. Vanuit dit mens-gebonden onderzoek ontstaan onderzoeksvragen die niet bij de mens onderzocht kunnen worden omdat dit teveel (onherstelbare) schade zou veroorzaken. Zo is, bijvoorbeeld, het nemen van biopten uit hersenweefsel niet zonder risico op (blijvende) schadelijke gevolgen. Om inzicht te verkrijgen in de gevolgen van een verandering in het *FMR1* gen op het functioneren van individuele cellen in een organisme (mens) is het essentieel om op organismaal niveau de effecten hiervan te bestuderen. Tot op heden is dit de enige betrouwbare methode om uitspraken te doen over gen functie cq verlengde CGG herhalingen op organismaal niveau. Dit maakt een proefdier onmisbaar. Voor bepaalde onderzoeken kan hersenmateriaal gebruikt worden dat verkregen is via obductie maar het gebruik van levend hersenmateriaal (biopten) van de mens is geen reëel alternatief. Daarnaast betreft het hier altijd hersenmateriaal op het einde van het ziektebeeld wanneer de meeste schade al is aangericht en nadere bestudering van de pathogenese onmogelijk is. Waar mogelijk zal gebruik gemaakt worden van in vitro celkweek technieken. Voordat we besluiten over te gaan tot de proefdierstudies worden de in vitro technieken eerst volledig benut om daarna zo efficiënt mogelijk de diermodellen te kunnen gebruiken. Maar het blijft noodzakelijk proefdieren te gebruiken.

### 4.2 Vermindering

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

De uitvoering van experimenten in stappen met zogenaamde 'go-no-go' momenten worden ingebouwd. Transgene lijnen worden tot een minimum in fok gehouden en alleen als er sprake is van nauwelijks of geen ongerief. Het invriezen van sperma van founders voorkomt het onnodig lang in fok houden. Bovendien zijn de aantallen dieren die worden gebruikt bepaald aan de hand van statistische poweranalyse waar mogelijk en de reeds jarenlange ervaring met dit soort experimenten.

### 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.

De neurologische aandoeningen kunnen wij niet op een andere manier modelleren door de complexiteit van het brein. Met name het gedrag valt niet anders te bestuderen dan in een functionerend organisme met een complex brein. De kennis van en de expertise over de muis is heel groot en de ontwikkeling van het centrale zenuwstelsel vertoont in hoge mate gelijkenis met de mens, dat maakt dat de muis een geschikt diermodel is. Waarbij het ook van belang is dat we hier met genetisch homogene proefdieren te maken hebben wat het makkelijker maakt de bevindingen toe te schrijven aan de genetische modificaties die we hebben toegebracht

en niet in variaties in genetische achtergrond. Bovendien zullen experimenten niet onnodig lang uitgevoerd worden als blijkt dat we met een kortere behandeling reeds effecten zien. |

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

[De activatie van het neurologisch ziektebeeld wordt nauwkeurig gestuurd en dus is het goed mogelijk om de dieren daarna in de tijd te vervolgen zodat tijdig kan worden ingegrepen wanneer de ziekte ernstige vormen aanneemt. Alle experimenten worden uitgevoerd door volledig gekwalificeerd personeel met veel kennis en expertise opgedaan in dit al reeds jaren lopende onderzoek.

Dagelijks worden de muizen gecontroleerd op welzijn. Waar nodig zullen de muizen pijnbestrijding en/of anesthesie krijgen. Mocht onverhoopt het ongerief van de dieren hoger oplopen dan verwacht, dan zullen zij uit experiment gehaald worden. Daarbij worden humane eindpunten gehanteerd. Dieren afkomstig uit nieuwe transgene lijnen zullen volgens Europese wetgeving gericht op het ontstaan van ongerief worden gecontroleerd door ervaren proefdierversorgers, biotechnici en de bij dit project betrokken onderzoekers. Indien de fok gepaard gaat met matig-ernstig ongerief dan zullen de GA lijnen niet aangehouden worden. |

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

|15-06-2016 |

Beoordeling achteraf

|Nee |

Andere opmerkingen

|Nee |