1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Ontwikkeling van genetische therapieën voor erfelijke blindheid met behulp van zebravis modellen
1.2	Looptijd van het project	14-4-2017 - 14-4-2022
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	Netvlies, Genetische therapie, Blindheid, Erfelijke netvlies degeneratie

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

[X] Fundamenteel onderzoek
[X] Translationeel of toegepast onderzoek
[] Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
[] 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)	Uit recent klinisch onderzoek is gebleken dat patiënten met een erfelijke vorm van blindheid of slechtziendheid met succes behandeld kunnen worden via genetische therapieën, bijvoorbeeld door het inbrengen van een gezonde kopie van het gemuteerde gen in het netvlies van het oog. Voor het ontwikkelen van nieuwe therapieën en verbeteren van bestaande therapieën is het van essentieel belang om, nadat eerst mogelijke effectiviteit is aangetoond in cellulaire of andere in vitro systemen, deze mogelijke nieuwe strategieën verder te ontwikkelen in de context van het gehele netvlies gekoppeld aan de visuele structuren in de hersenen. Deze experimenten zullen we uitvoeren in zebravissen. In dit project zullen we: • onderzoeken op welke manier therapeutische moleculen het meest optimaal kunnen worden toegediend aan het netvlies. • op moleculair niveau onderzoeken welke therapeutische strategieën het meest effectief zijn. • bestuderen of herstel van moleculaire (en cellulaire) functie ook leidt tot verbeterd gezichtsvermogen, zowel in het netvlies als in het brein.
3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	De ontwikkeling en analyse van nieuwe behandelingen van het oog voor patiënten met erfelijke netvlies degeneratie worden door dit project mogelijk gemaakt. De uitkomsten van dit project vormen de basis van toekomstige klinische trials in de mens om het zicht te herstellen en de kwaliteit van leven van blinde en slechtziende patiënten te verbeteren.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	In dit project zullen we gebruik maken van zowel wild type zebravissen en genetisch gemodificeerde (mutant) zebravissen. We verwachten voor het gehele project maximaal 21943 zebravissen te gebruiken.
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De dieren zullen stress, pijn en angst ondervinden als gevolg van de toenemende slechtziendheid, de injecties in het oog onder narcose, en de meting in een meetkamer terwijl het dier niet verdoofd is.

3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Bij alle dierproeven wordt gebruik gemaakt van zebravissen met mutaties die leiden tot progressieve netvliesafwijkingen. We verwachten dat dit maximaal een licht ongerief oplevert voor de dieren, omdat zebravissen veel meer dan mensen vertrouwen op reukorgaan en laterale lijn orgaan voor het navigeren en verzamelen van voedsel. De beschreven experimenten kunnen grofweg worden onderverdeeld in drie groepen: 1. De eerste groep omvat het aanleveren van de therapeutische moleculen middels intra-oculaire injecties. Hoewel deze behandeling onder anesthesie wordt uitgevoerd, verwachten we matig ongerief bij de vissen als gevolg van de procedure. We passen geen aanvullende pijnbestrijding toe, omdat hiervoor geen methoden bestaan die gevalideerd zijn voor gebruik bij zebravissen. 2. Een groot deel van de dieren (ruim 90%) zal vervolgens een post-mortem moleculaire of functionele analyse ondergaan. De dieren ondervinden hierbij ongerief van het feit dat ze worden gedood. Afhankelijk van de analyse zullen de dieren onder normale of terminale verdoving worden gebracht, waarna de ruggengraat wordt doorgesneden. 3. Wanneer we het effect van de therapie willen bepalen op het vermogen van de ogen om visuele signalen door te sturen naar de hersenen, en om te zetten in een fysieke response, moeten we metingen op levende dieren uitvoeren. De dieren zitten voor deze niet-invasieve meet methode gefixeerd in een speciale meetkamer. De dieren worden onder verdoving hierin geplaatst, en zullen later bijkomen. Dit is noodzakelijk voor de dieren om een fysieke reactie te laten zien op een visuele stimulus. We verwachten dat dit matig ongerief oplevert voor de dieren. In totaal verwachten we een licht ongerief bij 53% van de dieren, matig ongerief bij 26% van de dieren en een terminaal ongerief (zonder voorafgaand ongerief) bij 21% van de dieren. Alleen dieren uit het experiment zullen het einde van het experiment worden geofferd.
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	Na afloop van het experiment worden de dieren gedood, en worden de ogen gebruikt voor verdere analyse.

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.	De eigenschappen en functie van het oog kunnen helaas niet in celkweken worden nagebootst, daarvoor hebben we levende dieren nodig. Dit geldt met name voor de connecties tussen de verschillende cellagen van het netvlies, alsook de verbinding met het visuele centrum in het brein.

4.2	**Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Voorafgaand aan dierproeven, maken we gebruik van celkweek studies voor het bepalen van de efficiëntie en uitkomsten van de mogelijke oogbehandelingen. Pas na positieve resultaten in deze celsystemen zullen dierproeven worden gestart. Vervolgens zal de in vivo effectiviteit van de behandelingen eerst op moleculair niveau worden getest (klein aantal dieren) en zullen alleen de echt veelbelovende strategieën verder worden ontwikkeld middels functionele testen. Voor deze functionele testen is een groter aantal dieren vereist, waarvan een deel gebruikt wordt voor metingen op levende dieren (meer ongerief). In onze opzet, waarbij we metingen op levende dieren op meerdere tijdstippen zullen uitvoeren, worden steeds dezelfde dieren gemeten. Doordat we deze dieren markeren met een onderhuidse kleurstof, kunnen we gepaarde waarnemingen doen. Hierdoor zijn minder dieren nodig om een statistisch significant effect aan te tonen.
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.	We hebben gekozen voor de zebravis omdat deze diersoort bepaalde eigenschappen heeft die bij uitstek passen bij het beantwoorden van onze onderzoeksvragen. Zo lijkt de opbouw van hun netvlies erg op dat van de mens, en zijn de genetische en moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan visuele functie en aan beperkingen daarvan vergelijkbaar. Voor sommige genetische oorzaken van blindheid is het netvlies van de zebravis juist een geschikter model voor het humane netvlies dan dat van een rat of muis. We zullen onderzoeken of we een minder belastende manier kunnen gebruiken om de therapeutische moleculen in het netvlies af te geven, en deze vergelijken met de ooginjecties. De mate van ongerief dat de injecties in het oog oplevert weegt zwaar in de keuze voor de uiteindelijke methode van toediening.
4.4	Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.	We passen verdoving toe om het ongerief te beperken. De dieren zullen door ons en de dierverzorgers nauwlettend in de gaten gehouden worden. Zodra er signalen zijn van ongerief, dan zullen de dieren uit het experiment worden gehaald. In het geval van transgene toedienen van de therapie, zullen eventuele negatieve effecten op welzijn en ontwikkeling al in het larvale stadium duidelijk worden. In dat geval, zullen we deze dieren niet laten opgroeien, en onze strategie verfijnen. Als blijkt dat sommige genetisch gemodificeerde dieren toch achterblijven in groei en eetgedrag, dan zullen we onze methode van voeren aanpassen

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	28 april 2017
Beoordeling achteraf	Nee
Andere opmerkingen	Nee