Centrale Commissie Dierproeven

Niet-technische samenvatting 202013788

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Correctie van genetische defecten bij spierdystrofie in bestaande of nieuwe diermodellen.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	spierontwikkeling, spierdystrofie, spierregeneratie, ziekte van Duchenne

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	X Fundamenteel onderzoek
	X Translationeel of toegepast onderzoek
	☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.	☐ 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)	Genetische spierziekten, zoals de ziekte van Duchenne, manifesteren zich vaak al op jonge leeftijd en zijn een grote belasting voor de patiënt en zijn naasten. Bij deze ziektes degenereren steeds meer spieren (spierdystrofie) waardoor de patiënt in een rolstoel belandt en afhankelijk kan worden van beademingsapparatuur. Deze ziekte wordt veroorzaakt door een genetisch defect waardoor een specifiek eiwit (Dystrofine) niet gemaakt wordt of niet functioneel is. Herstellen van dit genetisch defect zou verdere spierdystrofie kunnen remmen of voorkomen. Recente wetenschappelijke ontwikkelingen hebben geleid tot ontwikkeling van strategieën om genetische defecten te verhelpen. Vooral CRISPR-Cas, een nieuwe

technologie die heel precies DNA kan modificeren, is veelbelovend. Deze technologie moet echter nog verder ontwikkeld worden om:

(1) defecten in voldoende cellen te kunnen herstellen om een therapeutisch effect te kunnen zien (in spiercellen moet er ongeveer 30% voor hersteld worden).
(2) Veilig genoeg te zijn en geen ongewenste modificaties in het DNA te maken.
(3) Stamcellen in de patiënt genetisch te kunnen modificeren. Dit geeft de mogelijkheid tot permanent herstel van de spieren.

De genetische modificaties in dit project betreffen geen kiembaanmodificaties (het veranderen van DNA in een embryo).
Naast het ontwikkelen van een technologie om genetische defecten te herstellen willen we ook verder onderzoeken hoe de samenstelling van spieren verandert bij spierdystrofie (degeneratie) en herstel hiervan (regeneratie). Tevens willen we tijdens de ontwikkeling kijken welke genen belangrijk zijn voor de ontwikkeling van een spier. Kennis over veranderingen in spieren tijdens degeneratie/ regeneratie en kennis over spierontwikkeling kunnen helpen om nieuwe 'targets' te vinden om spierdystrofie te verminderen en te herstellen.

In dit project maken we gebruik van muizen om spierontwikkeling en spierdegeneratie en -regeneratie te bestuderen. We gebruiken muizenmodellen voor de ziekte van Duchenne om hiervoor genetische therapieën te ontwikkelen en defecten in het DNA die de ziekte veroorzaken te herstellen. Om genetische defecten in ademhalingsspieren te kunnen herstellen gebruiken we ratten (muizen zijn te klein hiervoor). Vermindering van degeneratie in de ademhalingsspieren zou een significante verbetering van de levenskwaliteit van de patiënt betekenen.

Samenvattend zal het werk beschreven in dit voorstel leiden tot:
1. Inzicht in spierontwikkeling en processen die een rol spelen bij spierdegeneratie en -regeneratie.
2. Ontwikkeling van genetische therapieën om genetische defecten bij spierziekten te herstellen.

3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	We verwachten inzichten te verkrijgen in spierontwikkeling en processen die een rol spelen bij spierdegeneratie en -regeneratie. Dit is voor zowel wetenschappelijk als maatschappelijk belang omdat kennis hiervan ingezet kan worden om spierherstel in patiënten te bevorderen of om degeneratie te remmen. We gaan ook genetische therapieën ontwikkelen om genetische defecten bij spierziekten te herstellen. Op termijn kunnen deze verkregen inzichten bijdragen aan een behandeling bij patiënten.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Muis (ten hoogste 4059 dieren) en rat (ten hoogste 136 dieren).
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De negatieve effecten voor de proefdieren worden veroorzaakt door het ondergaan van een injectie, het fixeren van een poot (om degeneratie te veroorzaken omdat de spieren dan niet gebruikt worden), schade toebrengen aan spieren (nodig voor transplantatie van cellen), solitaire huisvesting, bloed afnames en het doden. Sommige dieren zijn genetisch gemodificeerd om als model te fungeren voor de ziekte van Duchenne. Deze muizen zullen mogelijk hinder ondervinden van de resulterende spierdystrofie.
3.5	Hoe worden de dierproeven in het	In totaal 4059 muizen, waarvan 2104 muizen licht ongerief (52%) en 1955 muizen matig ongerief (48%). Ratten: 64 licht ongerief (47%); 72 matig ongerief (53%).

	project ingedeeld naar de verwachte ernst?	De experimentele handelingen en omstandigheden zijn te categoriseren in de te verwachte ernst van het ongerief als volgt van een of een combinatie van onderstaande handelingen: Licht: korte verdoving, injecties (in de spier en buik), bloedafnames, spierkracht analyse, ademtest, muis modellen voor de ziekte van Duchenne met milde spierdystrofie, doden. Matig: immobiliseren van een poot, (mogelijk) solitaire huisvesting, induceren van spierschade, muis- en rat modellen voor de ziekte van Duchenne met matige spierdystrofie.
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	Na afloop van het experiment zullen de dieren worden gedood. Weefsels zullen worden geanalyseerd voor veranderingen in genexpressie, en de efficiëntie en de effecten van de genetische modificatie.

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.	Een belangrijk deel van het door ons verrichte onderzoek wordt gedaan op (stam)celkweekmodellen. Echter, spierontwikkeling tijdens de ontwikkeling kan niet in celkweekmodellen worden nagebootst en daarom zijn diermodellen noodzakelijk. Voor het ontwikkelen van genetische therapieën is het van belang om in een weefsel voldoende cellen te kunnen modificeren en het effect van behandeling op spierfunctionaliteit te kunnen bekijken.
4.2	**Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	De keuze om te starten met dierproeven wordt gemaakt na de volgende stappen: 1. We kijken eerst in (stam)celkweekmodellen naar effectiviteit van CRISPR-Cas. 2. We gaan eerst de effectiviteit van CRISPR-Cas bepalen in gezonde diermodellen waarin we dit goed kunnen analyseren voordat we in ziektemodellen gaan kijken. 3. We kijken eerst of we voldoende stamcellen kunnen targeten in gezonde diermodellen waarin we dit goed kunnen analyseren met CRISPR-Cas voordat we ze in muizen transplanteren. Door deze sequentiële flow is het aantal proefdieren dat we gebruiken lager. Daarnaast is ons lab voortdurend bezig met het ontwikkelen van nieuwe methoden voor verbetering, maar ook vermindering van het gebruik van proefdieren. Een tastbaar voorbeeld hiervan is een internationale samenwerking die we zijn gestart met een groep die een methode heeft ontwikkeld voor het genereren van humane spiercellen uit stamcellen. Deze methode stelt ons in staat spierziektes te bestuderen in de context van humane cellen, wat zowel beter inzicht geeft in de humane situatie als het aantal dierproeven reduceert.

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 gebruiken de muis als diermodel vanwege de vergelijkbare spierontwikkeling en beschikbare genetisch gemodificeerde muizen om de effectiviteit van CRISPR-Cas te kunnen bestuderen. De muis is geschikt omdat efficiënte methodes voor het maken van genetische modificaties beschikbaar zijn. We gebruiken de rat om spieren de ademhalingsspieren te modificeren omdat muizen hiervoor te klein zijn.
	Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.	Proefdieren worden dagelijks gemonitord voor de aanwezigheid van ongerief. Een strikte handhaving van humane eindpunten (dit is een een mate van ongerief waarbij het dier geëuthaniseerd zal worden) zal voorkomen dat ze onnodig ongerief ondervinden. Goede training en continuïteit van het uitvoerende personeel zal verder bijdragen aan het minimaliseren van het ongerief.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	19 maart 2021
Beoordeling achteraf	Nee
Andere opmerkingen	Nee