

|            |                                                                                                                       |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------|---------------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
|            | <b>Inventaris Wob-verzoek W15-08</b>                                                                                  |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
|            |                                                                                                                       |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
|            |                                                                                                                       | <b>wordt verstrekt</b> |             |               | <b>weigeringsgronden</b> |               |               |               |             |
| <b>nr.</b> | <b>document</b>                                                                                                       | <b>reeds openbaar</b>  | <b>niet</b> | <b>geheel</b> | <b>deels</b>             | <b>10.1.c</b> | <b>10.2.e</b> | <b>10.2.g</b> | <b>11.1</b> |
|            | <b>NTSAVD2015133, Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker</b> |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
| 1          | projectvoorstel                                                                                                       |                        |             |               | x                        | x             |               | x             |             |
| 2          | ontvangstbevestiging                                                                                                  |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 3          | Niet technische samenvatting                                                                                          | x                      |             |               |                          |               |               |               |             |
| 4          | Dec advies                                                                                                            |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 5          | bijlage beschrijving dierproef 1                                                                                      |                        |             |               | x                        | x             |               | x             |             |
| 6          | bijlage beschrijving dierproef 2                                                                                      |                        |             |               | x                        | x             |               | x             |             |
| 7          | bijlage beschrijving dierproef 3                                                                                      |                        |             |               | x                        | x             |               | x             |             |
| 8          | bijlage beschrijving dierproef 4                                                                                      |                        |             |               | x                        | x             |               | x             |             |
| 9          | dierproef 1 herziene versie                                                                                           |                        |             |               | x                        | x             |               | x             |             |
| 10         | schema groepsindeling                                                                                                 |                        |             |               | x                        | x             |               | x             |             |
| 11         | aanvraagformulier                                                                                                     |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 12         | mail van onderzoeker dd 10-6-2015                                                                                     |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 13         | interne mail NTS op website                                                                                           |                        | x           |               |                          |               |               |               | x           |
| 14         | mail aanhouden beoordelen dd 10-6-2015                                                                                |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 15         | mailwisseling met onderzoeker 2 dd 11-6-2015                                                                          |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 16         | mailwisseling met onderzoeker 3 dd 11-6-2015                                                                          |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 17         | mailwisseling met onderzoeker 4 dd 11-6-2015                                                                          |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 18         | mailwisseling met onderzoeker 5 dd 12-6-2015                                                                          |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 19         | mail terugkoppeling aan DEC dd 17-7-2015                                                                              |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 20         | beschikking                                                                                                           |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 21         | mail aan DEC ter info welke vragen gesteld 17-6-15                                                                    |                        |             |               | x                        |               | x             |               |             |
| 22         | advies aan CCD                                                                                                        |                        | x           |               |                          |               |               |               | x           |



## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

### 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 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 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

#### Aanleiding

Kanker is een belangrijke oorzaak van mortaliteit en morbiditeit in de westerse wereld. Verschillende therapeutische strategieën kunnen worden ingezet om solide tumoren te bestrijden, zoals chirurgische verwijdering, radiotherapie en chemotherapie. In tegenstelling tot chirurgie en radiotherapie, zijn chemotherapeutica – medicijnen die kankercellen doden of remmen in hun groei – meestal niet erg specifiek voor de tumor; na orale of intraveneuze toediening verspreidt de stof zich over het hele lichaam, waardoor ook gezonde cellen en weefsels aangevallen kunnen worden. Dit leidt tot (soms ernstige) bijwerkingen, zoals bloedarmoede (rode bloedcellen in beenmerg worden aangetast), stollingsproblemen (bloedplaatjes), infecties (immuuncellen), diarree (darmcellen), zenuwaandoeningen (zenuwcellen), en haarverlies (haarcellen). Daarom is de ontwikkeling van specifiekere medicijnen van groot belang. Een verhoogde specificiteit kan bereikt worden via het identificeren van nieuwe therapeutische aangrijpingspunten die alleen in kankercellen gevonden worden, maar niet in andere, gezonde, cellen. Helaas dit is lang niet altijd succesvol aangezien het verschil tussen een zieke en gezonde cel zelden zwart-wit is. Een andere methode voor het verhogen van specificiteit is het ontwikkelen van strategieën die de concentratie van actieve stof in het doelweefsel (de tumor) verhogen en tegelijkertijd hun localisatie in de gezonde weefsels voorkomen. Dit project richt zich op dit concept.

Voor diagnostische toepassingen is er een vergelijkbaar doel. Intraveneus toegediende contrastmiddelen worden gebruikt voor de (vroeg) detectie van tumoren en uitsaaiingen. Hogere specificiteit (bv via antilichamen) leidt tot een beter contrast tussen gezond en ziek weefsel, wat de identificatie van subtiele afwijkingen makkelijker maakt. Gelijk aan de therapeutische toepassing, kan ook hier de strategie van een verhoogde accumulatie van de (in dit geval diagnostisch) actieve stof in het doelweefsel toegepast worden. Dit, in parallel met het voorkomen van localisatie in gezond weefsel, zal leiden tot een beter contrast, wat gunstig is voor vroege detectie en diagnose.

#### Achtergrond

Door middel van het encapsuleren van actieve stoffen in nanodragersystemen (tussen 10-200 nm in diameter) is het mogelijk een hoge concentratie van deze actieve stoffen in kwaadaardige tumoren en ontstoken weefsels te krijgen.

Het principe hierachter is het Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect: ontstoken weefsels en tumoren worden in veel gevallen gekenmerkt door een verhoogde doorbloeding en toegenomen capillaire permeabiliteit, resulterend in oedeemvorming. Dragersystemen van deze grootte hebben normaliter een te grote diameter om uit de (gezonde) bloedvaten te treden, maar door de verhoogde permeabiliteit van de capillairen is dit bij tumoren wel het geval. In combinatie met de hogere lokale doorbloeding zal dit resulteren in een relatief hoge concentratie van nanodragers-gebonden stof in de tumor en relatief lage concentratie in de gezonde weefsels, terwijl hetzelfde niet-geencapsuleerde middel zich over het hele lichaam zou distribueren. Het netto-effect van nanodragersystemen is dus een verhoogde effectiviteit (meer actieve stof in het doelweefsel) en een verlaagde toxiciteit (minder actieve stof in de andere weefsels).

Daarnaast zijn de farmacokinetische eigenschappen van een nanodrager over het algemeen veel gunstiger dan die van de geëncapsuleerde stof – voor therapeutische doeleinden kan een circulatietijd van meerdere dagen worden bereikt, doordat de uitscheiding door de nieren beperkt wordt, wat de

toedieningsfrequentie bij een gelijke dosering kan verlagen. De circulatietijd van nanodragers kan echter ook kort gehouden worden (voor b.v. diagnostische doeleinden, of in het geval van radioactieve stoffen) door gebruik te maken van snel degraderende materialen.

Om de selectiviteit van deze nanodragersystemen voor tumorcellen verder te versterken, kunnen deze uitgerust worden met zogenaamde “active targeting” functionaliteit – moleculen die specifiek binden aan een b.v. receptor op de doelcel en de opname door deze cellen mogelijk bevorderen. Veelgebruikte active targeting groepen zijn antilichamen, of delen daarvan, maar ook DNA oligonucleotiden (aptameren) en korte polypeptiden.

Deze nanodragersystemen kunnen gebruikt worden als medicijndragers door een therapeutisch actieve stof te encapsuleren, maar ook als contrastmiddel door een stof te encapsuleren die zichtbaar gemaakt kan worden via beeldvormde technieken. Echter, als gevolg van de veelzijdigheid van veel dragersystemen kan ook een combinatie van beiden ingebouwd worden, resulterend in een therapeutisch systeem dat ook in beeld gebracht kan worden – ook wel bekend als een “theranostic agent”. Deze zouden bijvoorbeeld toegepast kunnen worden om tijdens de behandeling het resultaat van deze behandeling over de tijd te vervolgen.

### Context

Dit project wordt opgezet als onderdeel van een onderzoeksprogramma binnen de vakgroep [REDACTED] [REDACTED] Rijksuniversiteit Groningen, in samenwerking met het [REDACTED], Universitair Medisch Centrum Groningen.

[REDACTED] heeft zeer ruime ervaring met de ontwikkeling van nanomaterialen voor verschillende toepassingen, waarvan met name de [REDACTED] zeer interessant zijn voor een nanodragersysteem toepassing. Deze [REDACTED] kunnen gebruikt worden voor de functionalisatie van bestaande nanodragers, zoals liposomen, maar ook voor de ontwikkeling van compleet nieuwe dragersystemen. [REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

Nast de hybride polymeer-DNA structuren heeft [REDACTED] ook veel expertise op het gebied van peptide/eiwit-gebaseerde nanopartikels, zoals [REDACTED]

De ontwikkelde nanodragers hebben al een veelbelovende biologische activiteit in cel culturen laten zien, de volgende stap is nu het bestuderen van hun bruikbaarheid als nanodragers voor therapeutische en diagnostische toepassing in kanker.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

### Doelstelling

De doelstelling van het project is de ontwikkeling van nieuwe nanodragersystemen voor therapeutische of diagnostische toepassingen in kanker. Via het EPR-effect, zoals beschreven onder 3.1, zullen nanodragersystemen passief accumuleren in het tumorweefsel. Aldaar kan de actieve stof – in het geval van chemotherapeutica – worden vrijgezet (door degradatie van het dragersysteem of via een externe of interne trigger), of het dragersysteem/medicijn kan middels een “active targeting” groep of pretargeting 2-stap strategie meer selectief naar een bepaalde cel gestuurd worden. In het geval van een diagnostische toepassing, is passieve accumulatie op zich voldoende, maar kan via een ‘binding event’ van b.v. een gebonden aptameer een “on/off” contrast

bewerkstelligd worden.

### **Haalbaarheid**

Synthese – de [REDACTED] heeft uitgebreide expertise op het gebied van de ontwikkeling van nanodragers, waaronder polymer-DNA hybride gefunctionaliseerde liposomen, micellen en “brush-like” nanodeeltjes. Deze zijn uitvoerig beschreven in hoog aangeschreven chemische, materiaal-georiënteerde en farmaceutische tijdschriften, en in de meeste gevallen geëvalueerd *in vitro* celculturen voor algehele toxiciteit en therapeutische effectiviteit.

Toepassing – de onderzoeksleider voor de *in vivo* toepassing van de nieuwe nanodragersystemen heeft veel ervaring met het toepassen van nanodeeltjes voor therapeutische doeleinden (nanomedicine). De infrastructuur van de dierfaciliteit bij de Rijksuniversiteit Groningen is uitermate geschikt voor dit type onderzoek. Er zijn verschillende beeldvormende technieken, zoals een fluorescentie scanner, beschikbaar om de effectiviteit op therapeutisch (via fluorescent protein-expressing tumoren) en diagnostisch vlak te analyseren.

### **3.3 Belang**

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

#### **Maatschappelijk belang**

Kanker is een belangrijke oorzaak van mortaliteit en morbiditeit in de westerse wereld. Nieuwe therapieën zijn nodig om de behandeling van kanker verder te verbeteren. Een veelbelovende manier om nieuwe therapieën te ontwikkelen of bestaande therapieën te verbeteren, is het gebruik van nanodragersystemen (zoals Doxil – een liposomaal dragersysteem voor doxorubicine – klinisch toegepast wordt voor borstkanker). Dit onderzoek richt zich op de verdere ontwikkeling van deze en nieuwe nanodragersystemen.

#### **Wetenschappelijk belang**

De ontwikkeling van nieuwe nanodragers kan het gebruik van tot op heden niet-functionele therapeutische strategieën bevorderen. [REDACTED]

Daarnaast vormen [REDACTED] een relatief nieuwe klasse van materialen, met buitengewoon interessante eigenschappen als biologische compatibiliteit en de mogelijkheid [REDACTED]. Deze materialen zijn nog nooit onderzocht voor hun functionaliteit als een nanodragersysteem *in vivo*.

### **3.4 Onderzoeksstrategie**

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

#### **Vorbereitung**

De nanodragersystemen worden eerst geanalyseerd *in vitro*, waarbij gekeken wordt naar effecten op viabiliteit en proliferatie van kankercellen en gezonde cellen. Daarnaast, wanneer er gebruik wordt gemaakt van een [REDACTED] zal ook de binding en opname van deze nanodragers in een relevante kankercellijn onderzocht worden.

#### **In vivo experimenten**

1) Eerst wordt de farmacokinetiek en (gezonde) biodistributie van de nanodragers onderzocht in gezonde muizen, dit wordt gedaan middels fluorescent- of

radioactief-gelabelde nanodragers. 2) In tumor-geïnoculeerde muizen wordt de tumor accumulatie geevalueerd. Dit is van belang voor verwachte effecten met het oog op therapeutische activiteit en efficiëntie voor diagnostische toepassingen. 3) In parallel, dit gebeurd in hetzelfde experiment, zal therapeutische activiteit op tumorgroei bestudeerd worden.

---

#### 3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

---

Onderdelen – voorbereiding

- Synthese en formulering van nanodragerssystemen
- in vitro toxiciteit en binding / opname karakterisatie

Dierproeven

- in vivo farmacokinetiek & biodistributie: Toediening van [redacted] aan groepen gezonde muizen. [redacted]

[redacted] Groepen muizen zullen geofferd worden op verschillende tijdstippen om zo het verloop van accumulatie van [redacted] per orgaan over de tijd in beeld te brengen. De karakterisatie van biodistributie via imaging technieken is onvoldoende gevoelig om een goed beeld te krijgen van de farmacokinetische eigenschappen van de nanodrager, er wordt in dit project daarom gekozen voor offeren op verschillende tijdstippen, in tegenstelling tot vervolg in over de tijd via in vivo imaging, zodat de mate van accumulatie per orgaan (ex vivo) nauwkeurig bepaald kan worden.

- in vivo tumor accumulatie & therapeutische activiteit: Toediening van [redacted] in verschillende doseringen aan groepen muizen met een geïnoculeerde tumor. Tumoraccumulatie wordt bestudeerd na het offeren van muizen op verschillende tijdstippen waarbij de ophoping van (diagnostische of therapeutische) nanodrager en eventueel beladen therapeutisch middel gemeten wordt.

In een tweede benadering zal er binnen dit project gekeken worden [redacted]

Hierbij wordt de [redacted] waarna de patient alleen in een later stadium - [redacted] De strategie zal zodanig ontworpen worden dat de [redacted]

[redacted] . Het grote voordeel hiervan is dat er [redacted] . Dit principe wordt al gebruikt voor bijvoorbeeld radionuclide therapie, waarbij een radioactieve stof wordt gericht naar het tumorweefsel, terwijl de rest snel uitgescheiden wordt.

Deze benadering heeft geen sterke gevolgen voor de voorgestelde typen van experimenten, maar voor beide stappen [redacted] ) zal farmacokinetiek en biodistributie onderzocht moeten worden.

---

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

---

Farmacokinetische eigenschappen en biodistributie zijn een belangrijke factor voor de uiteindelijke effectiviteit van het nanodragersysteem. Als de drager al snel afgebroken en/of uitgescheiden wordt, zal dit de bruikbaarheid voor therapeutische toepassingen sterk verminderen. Maar voor diagnostische toepassing kan dit juist weer een positieve eigenschap zijn – in het geval van [REDACTED] dus geschikter zouden kunnen zijn. De farmacokinetiek en biodistributie is daarom van belang alvorens over te gaan op tumor accumulatie en therapeutische activiteit studies.

Het is echter ook denkbaar dat de farmacokinetiek en biodistributie als onderdeel van een therapeutische studie worden bestudeerd. Wanneer van een nanodrager al veel informatie beschikbaar is in de literatuur – denk b.v. aan liposomale dragers – en er zijn slechts minimale aanpassingen aan de nanodrager (bv alleen een [REDACTED]) dan zou de kinetiek en distributie met bijvoorbeeld [REDACTED] via een fluorescentie scanner over de tijd gemonitord kunnen worden, ter bevestiging van de eerdere studies.

Fasering:

- 1) in vitro experimenten: toxiciteit of onvoldoende aanwijzingen voor activiteit? Stop
- 2) Farmacokinetiek en biodistributie in vivo: toxiciteit of onvoldoende aanwijzingen voor mogelijke toepassing als therapeutisch of diagnostische nanodrager? Stop
- 3) Therapeutische activiteit

Stap 2 kan over worden geslagen (vermindering) als van een nanodrager al voldoende farmacokinetiek en biodistributie bekend is, zoals voor conventionele [REDACTED] anders is.

---

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

| Volgnummer | Type dierproef                                            |
|------------|-----------------------------------------------------------|
| 1          | Farmacokinetiek & biodistributie                          |
| 2          | Tumor accumulatie en therapeutische activiteit            |
| 3          | Farmacokinetiek & biodistributie [REDACTED]               |
| 4          | Tumor accumulatie en therapeutische activiteit [REDACTED] |
| 5          |                                                           |
| 6          |                                                           |
| 7          |                                                           |
| 8          |                                                           |
| 9          |                                                           |
| 10         |                                                           |





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1  
9713 AV GRONINGEN  
[Barcode]

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD105002015133

**Bijlagen**

2

Datum 15-06-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw [Redacted]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 5 juni 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002015133. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

**Wacht met de uitvoering van uw project**

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. Zodra uw aanvraag compleet is, ontvangt u binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Factuur**

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan wordt uw aanvraag buiten behandeling gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10500  
Naam instelling of organisatie: Rijksuniversiteit Groningen  
Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde: [REDACTED]  
KvK-nummer: 1179037  
Straat en huisnummer: A. Deusinglaan 1  
Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN  
IBAN: NL45ABNA0474567206  
Tenaamstelling van het  
rekeningnummer: Rijksuniversiteit Groningen

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]  
Functie: Assistant Professor  
Afdeling: [REDACTED]  
Telefoonnummer: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]@rug.nl

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u? ☒ Nieuwe aanvraag  
☐ Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 september 2015  
Geplande einddatum: 1 september 2020  
Titel project: Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker  
Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker  
Naam DEC: DEC-RUG  
Postadres DEC: A. Deusinglaan 1 HPC:FA29 9713 AV Groningen  
E-mailadres DEC: secrdec.umcg@umcg.nl

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 741,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen: ☒ Projectvoorstel  
☒ Beschrijving Dierproeven  
☒ Niet-technische samenvatting  
Overige bijlagen: ☒ DEC-advies

**Ondertekening**

Naam:   
Functie:   
Plaats: Groningen  
Datum: 8 juni 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1  
9713 AV GRONINGEN  
[Barcode]

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD105002015133

**Bijlagen**

2

Datum 15-06-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 15 juni 2015

Vervaldatum: 15 juli 2015

Factuurnummer: 201570133

| Omschrijving                                                                     | Bedrag   |
|----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Betaling leges projectvegrunning dierproeven<br>Betreft aanvraag AVD105002015133 | € 741,00 |

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.

# Format DEC-advies

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht*

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (interne RuG code **8010**)
2. Titel van het project: Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker.
3. Titel van de NTS: Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker
4. Type aanvraag:

**X** nieuwe aanvraag projectvergunning

5. Contactgegevens DEC: DEC-RuG

|                                |                            |
|--------------------------------|----------------------------|
| -naam                          | <b>DEC-RUG</b>             |
| -telefoonnummer contactpersoon | ██████████ /<br>██████████ |
| -mailadres contactpersoon      | ██████████@umcg.nl         |

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ☐ ontvangen door DEC **12-05-2015**
- ☐ aanvraag compleet **12-05-2015**
- ☐ in vergadering besproken **21-05-2015**
- ☐ anderszins behandeld **27-05-2015, 29-05-2015, 01-06-2015**
- ☐ termijnonderbreking(en) van / tot **26-27 mei, 28-29 mei**
- ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
- ☐ aanpassing aanvraag **27-05-2015**
- ☐ advies aan CCD **04-06-2015**

7. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t**

- Datum

- Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden
  - Aanwezige (namens) aanvrager
  - Strekking van de vraag / vragen
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
- Datum **26-05-2015, 28-05-2015, 01-06-2015**
  - Strekking van de vraag / vragen:  
**Met name de optie te komen tot vermindering van het proefdiergebruik middels optimalisering van het aantal tijdstippen in de bio distributie studies en de rol van imaging daarbij.**
  - Datum antwoord: **27-05-2015, 29-05-2015, 01-06-2015**
  - Strekking van het (de) antwoord(en):  
**Toepassing van imaging daar waar mogelijk en vaststelling aantal tijdstippen in overleg met IvD.**  
**De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag**
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): **n.v.t.**
- Aard expertise
  - Deskundigheid expert
  - Datum verzoek
  - Strekking van het verzoek
  - Datum expert advies
  - Expert advies

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet): **ja**
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag: **ja.**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren: **ja.**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: **n.v.t.**

## C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- ☒ uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
- ☐ uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
- ☐ uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord
- ☐ wettelijk vereist

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en): **ja**.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. **Immers voortgaande ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen bij sommige vormen van kanker is essentieel.**

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project, **waarbij duidelijk wordt voortgebouwd op voorafgaande resultaten uit *in vitro* onderzoek en fasering een belangrijk uitgangspunt is in het projectvoorstel.**

5. Ten aanzien van vermindering van het proefdiergebruik **wordt radioactieve c.q. fluorescente labeling toegepast teneinde het aantal tijdstippen en dito opoffering van dieren te verminderen.**

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd.

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen, **maar van belang is dat voorafgaand *in vitro* onderzoek een onlosmakelijk onderdeel is van het projectvoorstel.**

8. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie op het gebied van de ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen bij kanker.

9. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten

10. De niet-technische samenvatting maakt onderdeel uit van de aanvraag.



## D. Ethische afweging

De DEC ziet het belang van voortgaande ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen bij sommige vormen van kanker als essentieel. Terwijl *in vitro* onderzoek een onlosmakelijk onderdeel is van het projectvoorstel is het gebruik van proefdieren onvermijdelijk in onderhavig onderzoek, maar wordt daarnaast gestreefd naar vermindering van proefdiergebruik middels radioactieve c.q. fluorescente labeling. Op grond van alle voor de afweging relevante argumenten heeft de DEC de conclusie kunnen trekken dat het geplande onderzoek ethisch toelaatbaar is.

## E. Advies

### 1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarde

- ☐ **dat in dierproeven 1 en 3 bio distributie van nanodragers, waar mogelijk, wordt bestudeerd middels NIR of SPECT teneinde te komen tot vermindering van het aantal benodigde dieren.**

### 2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheids-minderheidsstandpunt

**Dit besluit is unaniem door de DEC genomen**



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

|     |                                                  |                             |                                  |
|-----|--------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.           | 10500                       |                                  |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Rijksuniversiteit Groningen |                                  |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in.     | Volgnummer                  | Type dierproef                   |
|     |                                                  | 1                           | Farmacokinetiek & biodistributie |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Experimenten worden verricht in gezonde muizen, omdat de farmacokinetiek en biodistributie uiteindelijk gerelateerd zal worden aan de therapeutische activiteit in ectopische tumor modellen (bijlage 2). In deze modellen wordt gebruik gemaakt van muizen. Er is veel kennis wat betreft de muis en zijn fysiologie, en er zijn meerdere goede tumor modellen beschikbaar. In dit experiment worden de dieren geïnjecteerd met een nanodrager [REDACTED] en op een vooraf vastgesteld tijdstip geofferd. Bloed en organen worden verwijderd en geanalyseerd voor concentratie nanodrager [REDACTED].

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Dieren krijgen 1 intraveneuze toediening in de staartvene. maximaal volume 200 uL, met nanodrager, nanodrager [REDACTED]  
[REDACTED] Dieren worden op vooraf vastgestelde termijn onder narcose gebracht, waarna in het geval van fluorescente labeling een scan wordt gemaakt, en wordt een zo groot mogelijk bloedvolume afgenomen (voor farmacokinetiek). Vervolgens worden dieren geofferd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Algemene overwegingen:

Door eerst te starten met farmacokinetische studies kunnen eventuele verschillen tussen nanodragers goed beoordeeld worden, alvorens door te gaan met therapeutische effectiviteits studies.

Statistiek:

Groepsgroottes worden bepaald middels een statistische power analyse. Uitkomstparameters zijn concentraties in bloed en organen over de tijd (Cmax, area under the curve (AUC), t1/2). Uitgangspunt hierbij is dat er in het geval van een vergelijking tussen groepen (bv nanodrager- [REDACTED] verschillende nanodragers) er een klinisch relevant verschil tussen de groepen zal moeten zijn - het is dus niet ons doel om marginale verschillen significant te krijgen. De power om zo'n effect te kunnen meten zal op minimaal 0.8 en maximaal 0.9 gesteld worden. Tenslotte zal er typisch een significantie van 0.05 gehanteerd worden.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Dier: volwassen muis (>8 weken). commerciële herkomst, in Europa geregistreerde fok (muis code 1, bijzonderheid code 1, herkomst code 2). Elke nanodrager/controle arm zal bestaan uit een serie groepen met verschillende euthanasie tijdstippen. Ingeschat worden 8 tijdstippen (om zowel de 'vroege' kinetiek (van b.v. [REDACTED], als de 'late' kinetiek (van b.v. nanodrager) te kunnen karakteriseren), 6 dieren per groep ±50 dieren per arm. Een typisch experiment zal bestaan uit nanodrager gevolgd door de op nanodrager- [REDACTED], waarbij 3 verschillende tijdsintervallen tussen beide injecties onderzocht zal worden. Verder zijn er 3 controle groepen waarbij [REDACTED] (1 injectie). Dus 300 dieren per experiment. Inschatting van het aantal experimenten over de loop van het project is 4, dus naar schatting 1200 dieren nodig bij volledige uitvoering van de plannen.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

☐ Nee

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: nanodragers worden eerst geanalyseerd voor toxiciteit en cellulaire opname (in geval van 'active targeting' functionaliteit) in vitro.

Farmacokinetiek en biodistributie is alleen mogelijk in een levend dier, dus een verdere vervanging is niet mogelijk.

Vermindering: Bij de experimentele planning wordt zo veel mogelijk gekeken naar de mogelijkheid om fluorescente biodistributie te bepalen. Dit is helaas niet voor alle nanodragers mogelijk (label kan juist de kinetiek veranderen, met name voor [REDACTED] en de nauwkeurigheid van fluorescentie is niet zo hoog als dat van radioactieve labeling.

Verfijning: Gebruik van gezonde muizen voor deze studies, geen noodzaak tot induceren van ziekte met eventueel ongerief.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Groepshuisvesting, kooi verrijking. Dit is een zeer kortlopend experiment, waarbij gezonde dieren eenmalig intraveneus worden behandeld. De kans op pijn, lijden en angst is daarom beperkt.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Literatuur. Dit zijn nieuwe nanodragers en formuleringen dus de kans op herhaling is minimaal.

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

☒ Nee

☐ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting / humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☐ Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Licht ongerief als gevolg van narcose (inslapen)

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Dieren worden tijdens narcose geëuthaniseerd.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☒ Nee > Ga verder met vraag K.

☐ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

•

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

<1% kans dat er een complicatie optreedt in een van de experimentele armen binnen dit type experiment

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

voor biodistributie is ex-vivo analyse per orgaan noodzakelijk

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

|     |                                                  |                             |                                               |
|-----|--------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------|
| 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.           | 10500                       |                                               |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Rijksuniversiteit Groningen |                                               |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in.     | Volgnummer                  | Type dierproef                                |
|     |                                                  | 2                           | Tumor accumulatie & therapeutische activiteit |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Experimenten worden verricht in ectopische tumor modellen in muizen. Ectopische modellen hebben als voordeel dat er vaak een relatief snelle tumor ontwikkeling is met een lagere variabiliteit dan 'spontane' genetische modellen. Een mogelijk nadeel van ectopische modellen ten opzichte van deze spontane modellen is dat deze tot op zekere hoogte minder realistisch zijn (alhoewel de translationele waarde van een genetisch muismodel naar mensen ook bediscussieerd kan worden). Het is hierbij echter belangrijk om op te merken dat er binnen deze studies vooral naar tumorgroei-remmende effecten en tumoraccumulatie van nanodragers gekeken zal worden. Hierbij wegen de voordelen zwaarder (kortere experimentele follow-up en lagere variabiliteit) dan de nadelen.

Dieren worden onder anesthesie eenmalig subcutaan geïnoculeerd met tumorvormende cellen, waarna binnen enkele weken een tumor zal ontstaan. In een enkel tumor model kan in een later stadium ook metastasering optreden. Vanaf een vooraf gedefinieerd moment (doorgaans gebaseerd op een bepaald tumor volume van 200-300 mm<sup>3</sup>) wordt er tot behandeling overgegaan. De behandeling bestaat uit [REDACTED]

[REDACTED] Dit wordt gedaan over de periode van enkele weken, afhankelijk van de tumorgroei in de controle groep. Als experimenteel eindpunt geldt een tumorgrootte van 1500 mm<sup>3</sup>, om voorkomen dat het humane eindpunt van 2000 mm<sup>3</sup> bereikt zal worden. Uitkomst parameters gedurende het experiment zijn tumor volume in tijd. Eindpunts parameters bestaan uit analyse van de tumor (bijvoorbeeld histologie of de bepaling van specifieke intratumorale markers), een algeheel bloedbeeld (RBC, WBC, trombocyten) voor toxiciteit, bloedplasma voor specifieke therapeutische markers, verdere organen voor toxiciteit en eventuele metastasering. In parallel zullen een aantal dieren een eenmalige toediening ontvangen, waarna ze op een vooraf vastgesteld tijdstip worden geofferd voor de bepaling van tumoraccumulatie en korte termijn toxiciteit (bloedbeeld).

Binnen het onderzoek hanteren we de code of practice "dierproeven in het kankeronderzoek" als leidraad.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Bij de muizen wordt onder anesthesie subcutaan een aantal tumorcellen ingebracht in een maximaal volume van 100 uL. Alleen bij dieren met een succesvolle tumorontwikkeling wordt behandeling gestart. Deze dieren krijgen maximaal 3 intraveneuze toedieningen per week in de staartvene (maximaal 12 toedieningen totaal), maximaal volume 200 uL, met nanodrager, [REDACTED]. Tumorumvolume wordt vervolgd via directe meting met een caliper (maximaal dagelijks) en/of via fluorescentie scan (wekelijks). In het laatste geval zullen de dieren onder narcose gebracht worden (maximaal 5x). Metastasering kan alleen via fluorescentie scan worden vervolgd. Toxiciteit van de nanodrager wordt beoordeeld via gewichtsmeting en wekelijkse bloedafname voor bloedbeeld bepaling; deze bloedafname zal zoveel mogelijk plaatsvinden ten tijde van de scan aangezien de dieren op dat moment onder narcose zullen zijn. Op het experimentele eindpunt worden de dieren onder narcose gebracht middels isofluraan, waarna bloed wordt afgenomen voor een bloedbeeld en plasma isolatie. Vervolgens worden dieren geofferd via cervicale dislocatie en tumor en relevante organen verwijderd. Voor de tumoraccumulatie groepen geldt dat een enkele toediening wordt gegeven, gevolgd door narcose, bloedafname en euthanasie op vooraf bepaalde tijden.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Algemene overwegingen:

Door eerst te starten met farmacokinetische studies kunnen eventuele verschillen tussen nanodragers goed beoordeeld worden, alvorens door te gaan met therapeutische effectiviteits studies - uit ervaring weten we dat therapeutische effectiviteit voor een belangrijk deel door een betere farmacokinetiek en biodistributie bepaald wordt. Binnen dit project kiezen wij bewust voor ectopische tumor modellen, zodat de experimentele duur en variabiliteit zoveel mogelijk beperkt worden.

Statistiek:

Groepsgroottes worden bepaald middels een statistische power analyse. Primaire uitkomst parameter is tumorgroei en/of tumor accumulatie. Uitgangspunt hierbij is dat er in het geval van een vergelijking tussen groepen (bv nanodrager-[REDACTED] of tussen verschillende nanodragers) er een klinisch relevant verschil tussen de groepen zal moeten zijn - het is dus niet ons doel om marginale verschillen significant te krijgen. Een tumor reductie van >25% is bijvoorbeeld relevant, maar dit is ook afhankelijk van het tumor model en de keuze van actieve stof. De power om zo'n effect te kunnen meten zal op minimaal 0.8 en maximaal 0.9 gesteld worden. Tenslotte zal er typisch een significantie van 0.05 gehanteerd worden.



## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Dier: volwassen muis (>8 weken). commerciële herkomst, in Europa geregistreerde fok (muis code 1, bijzonderheid code 1, herkomst code 2). Elke nanodrager/controle arm zal bestaan uit een serie groepen met verschillende doseringen. Ingeschat worden 3 doseringen, 8 dieren per groep  $\pm 25$  dieren per arm. Een typisch experiment zal bestaan uit [REDACTED], en twee controle groepen ( $\pm 8$  dieren elk) waarbij de [REDACTED] (in de hoogste dosering) en alleen vehicle (doorgaans PBS) worden toegediend. Voor de tumor accumulatie zijn er naar verwachting 6 dieren per tijdstip nodig, voor zowel de [REDACTED]. in het geval van 4 tijdstipen, zijn dit naar schatting  $\pm 75$  dieren. In totaal bevat dit experiment  $\pm 160$  dieren. Inschatting van het aantal experimenten over de loop van het project is 6, dus zijn naar schatting 1000 dieren nodig bij volledige uitvoering van de plannen.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

☐ Nee

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: het gebruik van nanodragers voor therapeutische toepassingen is sterk gebonden aan de fysiologie in levende dieren. Dit is vooralsnog niet te modeleren via in vitro experimenten of computer simulaties, dus vervanging is niet mogelijk.

Vermindering: Het gebruik van een ectopisch tumor model draagt bij aan een vermindering van het aantal dieren per groep (door een gereduceerde variabiliteit). Door in een eerste stap de farmacokinetiek te bepalen van nieuwe nanodrager systemen, zullen alleen de veelbelovende nanodragers verder getest worden in kankermodellen. Dit reduceert het aantal dieren waarbij de ziekte geïnduceerd wordt.

Verfijning: Stressvolle handelingen (zoals wangpunctie) worden zoveel mogelijk gedaan tijdens momenten dat de muis onder narcose is. Muizen worden zeer regelmatig gemonitord (maar niet altijd in combinatie met daadwerkelijke handelingen) om verminderingen in welzijn te beoordelen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Groepshuisvesting, kooi verrijking.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Literatuur. Dit zijn nieuwe nanodragers en formuleringen dus de kans op herhaling is minimaal.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

☒ Nee

☐ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting / humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☐ Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Licht ongerief als gevolg van narcose.

Ongerief als gevolg van tumor. Uit ervaring weten we dat het ongerief bij ectopische tumormodellen relatief laag is, mede omdat de anatomische locatie (subcutaan in de flank) de muis in principe niet in zijn functioneren zal belemmeren.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Beperking in beweging van muis door tumor.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Algemeen welzijn van de muis, gewichtsverlies >20%, of >15% in korte tijd (1-2 dagen)
- Tumorgrootte >2000mm<sup>3</sup>

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

<10%: In de meeste gevallen (>90%) zal tumorgrootte niet verder reiken dan het experimentele eindpunt 1500 mm<sup>3</sup>

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht (zonder metastasering, in meeste gevallen)

ernstig (in het geval van metastasering)

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

tumor analyse. Daarnaast zal in de meeste gevallen tumorgrootte een eindpunt zijn.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

|     |                                                  |                             |                                             |
|-----|--------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------|
| 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.           | 10500                       |                                             |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Rijksuniversiteit Groningen |                                             |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in.     | Volgnummer                  | Type dierproef                              |
|     |                                                  | 3                           | Farmacokinetiek & biodistributie [REDACTED] |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Experimenten worden verricht in gezonde muizen, omdat de farmacokinetiek en biodistributie uiteindelijk gerelateerd zal worden aan de therapeutische activiteit in ectopische tumor modellen (bijlage 4). In deze modellen wordt gebruik gemaakt van muizen. Er is veel kennis wat betreft de muis en zijn fysiologie, en er zijn meerdere goede tumor modellen beschikbaar. In dit experiment worden de dieren geïnjecteerd met een nanodrager [REDACTED] nanodrager. Andere dieren worden geïnjecteerd met alleen [REDACTED]

[REDACTED]. Dieren worden vervolgens op een vooraf vastgesteld tijdstip geofferd. Bloed en organen worden verwijderd en

geanalyseerd voor concentratie nanodrager en/of vrije stof.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Dieren krijgen 1 of 2 intraveneuze toedieningen in de staartvene, maximaal volume 200  $\mu$ L, met nanodrager, [REDACTED] of het oorspronkelijke ongemodificeerde vrije middel. Dieren worden op vooraf vastgestelde termijn onder narcose gebracht waarna in het geval van fluorescent gelabelde dragers een scan gemaakt zal worden, en daarna een zo groot mogelijk bloedvolume wordt afgenomen (voor farmacokinetiek). Vervolgens worden dieren geofferd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Algemene overwegingen:

Door eerst te starten met farmacokinetische studies kunnen eventuele verschillen tussen nanodragers goed beoordeeld worden, alvorens door te gaan met therapeutische effectiviteits studies. Het optimale tijdsinterval [REDACTED] zal in deze experimenten bepaald worden, zodat er tijdens de therapeutische studies alleen op 1 tijdsinterval geëxperimenteerd hoeft te worden.

Statistiek:

Groepsgroottes worden bepaald middels een statistische power analyse. Uitkomstparameters zijn concentraties in bloed en organen over de tijd ( $C_{max}$ , area under the curve (AUC), t). Uitgangspunt hierbij is dat er in het geval van een vergelijking tussen groepen (bv nanodrager-[REDACTED]; of tussen verschillende nanodragers) er een klinisch relevant verschil tussen de groepen zal moeten zijn - het is dus niet ons doel om marginale verschillen significant te krijgen. De power om zo'n effect te kunnen meten zal op minimaal 0.8 en maximaal 0.9 gesteld worden. Tenslotte zal er typisch een significantie van 0.05 gehanteerd worden.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Dier: volwassen muis (>8 weken). commerciële herkomst, in Europa geregistreerde fok (muis code 1, bijzonderheid code 1, herkomst code 2). Elke nanodrager/controle arm zal bestaan uit een serie groepen met verschillende euthanasie tijdstippen. Ingeschat worden 8 tijdstippen (om zowel de 'vroeg' kinetiek (van b.v. [REDACTED]), als de 'late' kinetiek (van b.v. nanodrager) te kunnen karakteriseren), 6 dieren per groep  $\pm$  50 dieren per arm. Een typisch experiment zal bestaan uit [REDACTED], waarbij 3 verschillende tijdsintervallen tussen beide injecties onderzocht zal worden. Verder zijn er 3 controle groepen waarbij [REDACTED] (1 injectie). Dus 300 dieren per experiment. Inschatting van het aantal experimenten over de loop van het project is 4, dus naar schatting 1200 dieren nodig bij volledige uitvoering van de plannen.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

☐ Nee

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: nanodragers een [REDACTED] worden eerst geanalyseerd voor toxiciteit en cellulaire opname (in geval van [REDACTED] [REDACTED] in vitro. Farmacokinetiek en biodistributie is alleen mogelijk in een levend dier, dus verdere vervanging is niet mogelijk.

Vermindering: Bij de experimentele planning wordt zo veel mogelijk gekeken naar de mogelijkheid om fluorescente biodistributie te bepalen. Dit is helaas niet voor alle nanodragers mogelijk (label kan juist de kinetiek veranderen), en de nauwkeurigheid van fluorescentie is niet zo goed als dat van radioactieve labeling. Farmacokinetiek is via het afnemen van kleine stalen bloed in dezelfde muis te bepalen, maar voor biodistributie is dit niet mogelijk. Juist voor [REDACTED] is een afwijkende biodistributie een belangrijke onderzoeksvraag.

Verfijning: Gebruik van gezonde muizen voor deze studies, geen noodzaak tot induceren van ziekte met eventueel ongerief. De [REDACTED] stof hoeft niet noodzakelijk biologisch actief te zijn om effectiviteit van de [REDACTED] te demonstreren. In dat geval is er wat betreft toxiciteit geen probleem te verwachten.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Groepshuisvesting, kooi verrijking. Dit is een zeer kortlopend experiment, waarbij gezonde dieren 2x intraveneus worden behandeld. De kans op pijn, lijden en angst is daarom beperkt.

### Herhaling en duplicering

#### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Literatuur. Dit zijn nieuwe nanodragers en formuleringen dus de kans op herhaling is minimaal.

### Huisvesting en verzorging

#### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

☒ Nee

☐ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### **Ongeriefinschatting / humane eindpunten**

#### **H. Pijn en pijnbestrijding**

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☐ Ja

#### **I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen**

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Licht ongerief als gevolg van narcose (inslapen)

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Dieren worden tijdens narcose geëuthaniseerd.

#### **J. Humane eindpunten**

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☒ Nee > Ga verder met vraag K.

☐ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.



- 

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

<1% kans dat er een complicatie optreedt in een van de experimentele armen binnen dit type experiment

#### **K. Classificatie van ongerief**

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht

### **Einde experiment**

#### **L. Wijze van doden**

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

voor biodistributie is analyse per orgaan noodzakelijk

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

|     |                                                  |                             |                                                          |
|-----|--------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------------|
| 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.           | 10500                       |                                                          |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Rijksuniversiteit Groningen |                                                          |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in.     | Volgnummer                  | Type dierproef                                           |
|     |                                                  | 4                           | Tumor accumulatie & therapeutische activiteit [REDACTED] |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Experimenten worden verricht in ectopische tumor modellen in muizen. Ectopische modellen hebben als voordeel dat er vaak een relatief snelle tumor ontwikkeling is met een lagere variabiliteit dan 'spontane' genetische modellen. Een mogelijk nadeel van ectopische modellen ten opzichte van deze spontane modellen is dat deze tot op zekere hoogte minder realistisch zijn (alhoewel de translationele waarde van een genetisch muismodel naar mensen ook bediscussieerd kan worden). Het is hierbij echter belangrijk om op te merken dat er binnen deze studies vooral naar tumorgroei-remmende effecten en tumoraccumulatie van nanodragers gekeken zal worden. Hierbij wegen de voordelen zwaarder (kortere experimentele follow-up en lagere variabiliteit) dan de nadelen.

Dieren worden onder anesthesie eenmalig subcutaan geïnoculeerd met tumorvormende cellen, waarna binnen enkele weken een tumor zal ontstaan. In een enkel tumor model kan in een later stadium ook metastasering optreden. Vanaf een vooraf gedefinieerd moment (doorgaans gebaseerd op een bepaald tumor volume van 200-300mm<sup>3</sup>) wordt er tot behandeling overgegaan. De behandeling bestaat uit intraveneuze toediening - [REDACTED]

[REDACTED] Dit wordt vervolgens vergeleken met de [REDACTED]

[REDACTED]. Deze behandeling wordt vervolgd over de periode van enkele weken, afhankelijk van de tumorgroei in de controle groep. Als experimenteel eindpunt geldt een tumorgrootte van 1500 mm<sup>3</sup>, om te voorkomen dat het humane eindpunt van 2000 mm<sup>3</sup> bereikt zal worden. Uitkomst parameters gedurende het experiment zijn tumor volume in tijd. Eindpunts parameters bestaan uit analyse van de tumor (bijvoorbeeld histologie of de bepaling van specifieke intratumorale markers), een algeheel bloedbeeld (RBC, WBC, trombocyten) voor toxiciteit, bloedplasma voor specifieke therapeutische markers, verdere organen voor toxiciteit en metastasering. In parallel zullen een aantal dieren een eenmalig dubbele toediening ontvangen, waarna ze op een vooraf vastgesteld tijdstip worden geoffered voor de bepaling van tumoraccumulatie en korte termijn toxiciteit (bloedbeeld). Binnen het onderzoek hanteren we de code of practice "dierproeven in het kankeronderzoek" als leidraad.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Bij de muizen wordt subcutaan een aantal tumorcellen ingebracht in een maximaal volume van 100 uL. Alleen bij dieren met een succesvolle tumorontwikkeling wordt behandeling gestart. Deze dieren krijgen maximaal 2 intraveneuze toedieningen per week in de staartvene (maximaal 12 toedieningen totaal), maximaal volume 200 uL, [REDACTED]. Controle groepen krijgen de [REDACTED]. Tumorvolume wordt vervolgd via directe meting met een caliper (maximaal dagelijks) en/of via fluorescentie scan (wekelijks). In het laatste geval zullen de dieren onder narcose gebracht worden (maximaal 5x). Metastasering kan alleen via fluorescentie scan worden vervolgd. Toxiciteit van de nanodragers wordt beoordeeld via gewichtsmeting en wekelijkse bloedafname voor bloedbeeld bepaling; deze bloedafname zal zoveel mogelijk plaatsvinden ten tijde van de scan aangezien de dieren op dat moment onder narcose zullen zijn. Op het experimentele eindpunt worden de dieren onder narcose gebracht, waarna bloed wordt afgenomen voor een bloedbeeld en plasma isolatie. Vervolgens worden dieren geofferd en tumor en relevante organen verwijderd.

Controle groepen krijgen [REDACTED] toegediend. Daarna volgt narcose, bloedafname en euthanasie op vooraf bepaalde tijden.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Algemene overwegingen:

Door eerst te starten met farmacokinetische studies kunnen eventuele verschillen tussen nanodragers goed beoordeeld worden, alvorens door te gaan met therapeutische effectiviteits studies - uit ervaring weten we dat therapeutische effectiviteit voor een belangrijk deel door een betere farmacokinetiek en biodistributie bepaald wordt. Binnen dit project kiezen wij bewust voor ectopische tumor modellen, zodat de experimentele duur en variabiliteit zoveel mogelijk beperkt worden.

Statistiek:

Groepsgroottes worden bepaald middels een statistische power analyse. Primaire uitkomst parameter is tumorgroei en/of tumor accumulatie. Uitgangspunt hierbij is dat er in het geval van een vergelijking tussen groepen (bv nanodragers [REDACTED]; of tussen verschillende nanodragers) er een klinisch

relevant verschil tussen de groepen zal moeten zijn - het is dus niet ons doel om marginale verschillen significant te krijgen. Een tumor reductie van >25% is bijvoorbeeld relevant, maar dit is ook afhankelijk van het tumor model en de keuze van actieve stof. De power om zo'n effect te kunnen meten zal op minimaal 0.8 en maximaal 0.9 gesteld worden. Tenslotte zal er typisch een significantie van 0.05 gehanteerd worden.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Dier: volwassen muis (>8 weken). commerciële herkomst, in Europa geregistreerde fok (muis code 1, bijzonderheid code 1, herkomst code 2). Elke nanodrager/controle arm zal bestaan uit een serie groepen met verschillende doseringen. Ingeschat worden 3 doseringen, 8 dieren per groep  $\pm 25$  dieren per arm. Een typisch experiment zal bestaan uit een arm met toediening van [REDACTED] (optimale interval bekend vanuit farmacokinetiek en biodistributie studies (type 3)), een [REDACTED] arm, en drie controle groepen ( $\pm 8$  dieren elk) waarbij de [REDACTED], of alleen vehicle (PBS) worden toegediend. Voor de tumor accumulatie zijn er naar verwachting 6 dieren per tijdstip nodig, voor zowel de pretargeting groep, de gerichte actieve stof alleen en oorspronkelijke ongemodificeerde therapeutisch middel groepen. In het geval van 4 tijdstipen, zijn dit naar schatting  $\pm 75$  dieren. In totaal bevat dit experiment  $\pm 150$  dieren. Inschatting van het aantal experimenten over de loop van het project is 4, dus schatting 600 dieren zijn nodig bij volledige uitvoering van de plannen.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

☐ Nee

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: het gebruik van nanodragers voor therapeutische toepassingen is sterk gebonden aan de macroscopische fysiologie in levende dieren. Dit is vooralsnog niet te modeleren via in vitro experimenten of computer simulaties, dus verdere vervanging is niet mogelijk.

Vermindering: Het gebruik van een ectopisch tumor model draagt bij aan een vermindering van het aantal dieren per groep (door een gereduceerde variabiliteit). Door in een eerste stap de farmacokinetiek te bepalen van nieuwe nanodrager systemen, zullen alleen de veelbelovende nanodragers verder getest worden in kankermodellen. Dit reduceert het aantal dieren waarbij de ziekte geïnduceerd wordt.

Verfijning: Stressvolle handelingen (zoals wangpunctie) worden zoveel mogelijk gedaan tijdens momenten dat de muis onder narcose is. Muizen worden zeer regelmatig gemonitord (maar niet altijd in combinatie met daadwerkelijke handelingen) om verminderingen in welzijn te vroegtijdig te identificeren.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Groepshuisvesting, kooi verrijking.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Literatuur. Dit zijn nieuwe nanodragers en formuleringen dus de kans op herhaling is minimaal.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

☒ Nee

☐ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting / humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☐ Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Licht ongerief als gevolg van narcose.

Mogelijk ongerief als gevolg van tumor. Uit ervaring weten we dat het ongerief bij ectopische tumormodellen relatief laag is, mede omdat de anatomische locatie (subcutaan in de flank) de muis in principe niet in zijn functioneren zal belemmeren.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Beperking in beweging van muis door tumor.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Algemeen welzijn van de muis, gewichtsverlies >20%, of >15% in korte tijd (1-2 dagen).
- Tumorgrootte >2000mm<sup>3</sup>

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

<10%: In de meeste gevallen (>90%) zal tumorgrootte niet verder reiken dan het experimentele eindpunt 1500 mm<sup>3</sup>

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht (zonder metastasering, in meeste gevallen)

ernstig (in het geval van metastasering)

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

tumor analyse. Daarnaast zal in de meeste gevallen tumorgrootte een eindpunt zijn.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

|     |                                                  |                             |                                  |
|-----|--------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.           | 10500                       |                                  |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Rijksuniversiteit Groningen |                                  |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in.     | Volgnummer                  | Type dierproef                   |
|     |                                                  | 1                           | Farmacokinetiek & biodistributie |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Experimenten worden verricht in gezonde muizen, omdat de farmacokinetiek en biodistributie uiteindelijk gerelateerd zal worden aan de therapeutische activiteit in ectopische tumor modellen (bijlage 2). In deze modellen wordt gebruik gemaakt van muizen. Er is veel kennis wat betreft de muis en zijn fysiologie, en er zijn meerdere goede tumor modellen beschikbaar. In dit experiment worden de dieren geïnjecteerd met een nanodrager of [REDACTED] en op een vooraf vastgesteld tijdstip geofferd. Bloed en organen worden verwijderd en geanalyseerd voor concentratie nanodrager [REDACTED].



Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Dieren krijgen 1 intraveneuze toediening in de staartvene. maximaal volume 200 uL, met nanodrager, nanodrager [REDACTED]  
[REDACTED] Dieren worden op vooraf vastgestelde termijn onder narcose gebracht, waarna in het geval van fluorescente labeling een scan wordt gemaakt, en wordt een zo groot mogelijk bloedvolume afgenomen (voor farmacokinetiek). Vervolgens worden dieren geofferd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Algemene overwegingen:

Door eerst te starten met farmacokinetische studies kunnen eventuele verschillen tussen nanodragers goed beoordeeld worden, alvorens door te gaan met therapeutische effectiviteits studies.

Statistiek:

Groepsgroottes worden bepaald middels een statistische power analyse. Uitkomstparameters zijn concentraties in bloed en organen over de tijd ( $C_{max}$ , area under the curve (AUC),  $t_{1/2}$ ). Uitgangspunt hierbij is dat er in het geval van een vergelijking tussen groepen (bv nanodrager-[REDACTED]; of tussen verschillende nanodragers) er een klinisch relevant verschil tussen de groepen zal moeten zijn - het is dus niet ons doel om marginale verschillen significant te krijgen. De power om zo'n effect te kunnen meten zal op minimaal 0.8 en maximaal 0.9 gesteld worden. Tenslotte zal er typisch een significantie van 0.05 gehanteerd worden.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Dier: volwassen muis (>8 weken). commerciële herkomst, in Europa geregistreerde fok (muis code 1, bijzonderheid code 1, herkomst code 2). Elke nanodrager/controle arm zal bestaan uit een serie groepen met verschillende euthanasie tijdstippen. Ingeschat worden 8 tijdstippen (om zowel de 'vroege' kinetiek (van b.v. [REDACTED] als de 'late' kinetiek (van b.v. nanodrager) te kunnen karakteriseren), 6 dieren per groep, geeft  $\pm 50$  dieren per arm. Een typisch experiment zal bestaan uit [REDACTED]. Dus 150 dieren per experiment. Inschatting van het aantal experimenten over de loop van het project is 6, dus naar schatting 900 dieren nodig bij volledige uitvoering van de plannen

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

☐ Nee

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: nanodragers worden eerst geanalyseerd voor toxiciteit en cellulaire opname (in geval van [REDACTED]) in vitro.

Farmacokinetiek en biodistributie is alleen mogelijk in een levend dier, dus een verdere vervanging is niet mogelijk.

Vermindering: Bij de experimentele planning wordt zo veel mogelijk gekeken naar de mogelijkheid om fluorescente biodistributie te bepalen. Dit is helaas niet voor alle nanodragers mogelijk (label kan juist de kinetiek veranderen, met name voor [REDACTED]), en de nauwkeurigheid van fluorescentie is niet zo hoog als dat van radioactieve labeling.

Verfijning: Gebruik van gezonde muizen voor deze studies, geen noodzaak tot induceren van ziekte met eventueel ongerief.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Groepshuisvesting, kooi verrijking. Dit is een zeer kortlopend experiment, waarbij gezonde dieren eenmalig intraveneus worden behandeld. De kans op pijn, lijden en angst is daarom beperkt.

### Herhaling en duplicering

#### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Literatuur. Dit zijn nieuwe nanodragers en formuleringen dus de kans op herhaling is minimaal.

### Huisvesting en verzorging

#### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

☒ Nee

☐ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting / humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☐ Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Licht ongerief als gevolg van narcose (inslapen)

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Dieren worden tijdens narcose geëuthaniseerd.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☒ Nee > Ga verder met vraag K.

☐ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

•

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

<1% kans dat er een complicatie optreedt in een van de experimentele armen binnen dit type experiment

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

voor biodistributie is ex-vivo analyse per orgaan noodzakelijk

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja

[illegible]



## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven

### Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

### 1 Gegevens aanvrager

- 1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? ☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 10500  
☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*
- 1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.
- |                                                     |                             |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------|
| Naam instelling of organisatie                      | Rijksuniversiteit Groningen |
| Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde | [Redacted]                  |
| KvK-nummer                                          | 1 1 7 9 0 3 7               |
- 1.3 Vul de gegevens van het postadres in.  
*Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*
- |                                       |                             |
|---------------------------------------|-----------------------------|
| Straat en huisnummer                  | A. Deusinglaan 1 HPC: FA 29 |
| Postbus                               |                             |
| Postcode en plaats                    | 9713AV GRONINGEN            |
| IBAN                                  | NL45ABNA0474567206          |
| Tenaamstelling van het rekeningnummer | Rijksuniversiteit Groningen |
- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.
- |                             |                     |                                                                       |
|-----------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| (Titel) Naam en voorletters | [Redacted]          | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | Assistant Professor |                                                                       |
| Afdeling                    | [Redacted]          |                                                                       |
| Telefoonnummer              | [Redacted]          |                                                                       |
| E-mailadres                 | [Redacted]@rug.nl   |                                                                       |
- 1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.
- |                             |  |                                                            |
|-----------------------------|--|------------------------------------------------------------|
| (Titel) Naam en voorletters |  | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     |  |                                                            |
| Afdeling                    |  |                                                            |
| Telefoonnummer              |  |                                                            |
| E-mailadres                 |  |                                                            |

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters ☐ Dhr. ☐ Mw.
- Functie
- Afdeling
- Telefoonnummer
- E-mailadres
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- ☐ Ja > *Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag*
- ☒ Nee

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- ☒ Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- ☐ Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- ☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- ☐ Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- ☐ Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 0 1 \_ 0 9 \_ 2 0 1 5
- Einddatum 0 1 \_ 0 9 \_ 2 0 2 0
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Ontwikkeling van nanodragers systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Ontwikkeling van nanodragers systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC DEC-RUG
- Postadres A. Deusinglaan 1, HPC:FA29
- E-mailadres secrdec.umcg@umcg.nl

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege  
☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. ☒ Via een eenmalige incasso  
☐ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- ☒ Projectvoorstel
- ☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ☐ Melding Machtiging
- ☒ Bijlagen (4)

## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Groningen

Datum

08-06-2015

Handtekening



**Van:** [REDACTED]  
**Verzonden:** woensdag 10 juni 2015 19:05  
**Aan:** ZBO-CCD  
**Onderwerp:** Re: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"  
**Bijlagen:** 150610\_bijlage\_beschrijving\_dierproeven\_1[REDACTED].nanomedicine\_herziene versie.doc; Naamloze bijlage 00043.htm; 150610 schema dieren\_[REDACTED].nanomedicine.docx; Naamloze bijlage 00046.htm  
**Ondertekend door:** [REDACTED]@rug.nl  
**Categorieën:** Dossierhouder: [REDACTED]

Geachte [REDACTED]

Bedankt voor uw email.

Ik heb de bijlages nog eens nagekeken en er is blijkbaar gedurende de tussentijdse revisies met IVD en DEC een fout in bijlage 1 geslopen, waardoor de tekst onder (B) hetzelfde is als in bijlage 3(B). Ik heb de juiste versie van bijlage 1 nu bijgevoegd.

Daarnaast heb ik een schema bijgevoegd waarin de inschatting van het aantal dieren inzichtelijker wordt gemaakt. Ik hoop dat dit voldoende informatie geeft.

Het geslacht van de muizen zal per experiment bepaald worden. Als er aanwijzingen zijn dat de farmacokinetiek van een stof beïnvloed wordt door de menstruele cyclus, dan zullen we gebruik maken van mannetjes. In de overige gevallen is er niet echt een reden te kiezen voor mannetjes of vrouwtjes. Wel zullen we binnen een experiment alleen dieren van een enkel geslacht gebruiken om eventuele variabiliteit te minimaliseren (bv in gewicht), zodat de groepen zo klein mogelijk gehouden kunnen worden.

Hopende u hiermee voldoende geïnformeerd te hebben,  
vriendelijke groet,

[REDACTED]

--

[REDACTED]  
[REDACTED]  
[REDACTED]

University of Groningen

[REDACTED]  
[REDACTED]

**Van:** ZBO-CCD  
**Verzonden:** woensdag 10 juni 2015 14:26  
**Aan:** [REDACTED]@rug.nl  
**Onderwerp:** Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Geachte [REDACTED]

Ik had nog enkele vragen bij uw projectaanvraag **AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"**:

- Aantallen dieren: bij dierproeven 2 en 4 kom ik op een ander eindtotaal dan beschreven in de bijlagen; daarnaast is de weergave van de berekening zeer ondoorzichtig. Tot slot: als ik de dieren van proeven 1 t.e.m. 4 optel kom ik aan  $1200 + 1000 + 1200 + 600 = 4000$  dieren i.p.v. 3700 zoals u onder punt 3.3 van de NTS schrijft. Zou u ons de berekeningen in een overzichtelijke tabel of schema kunnen toezenden?
- Het is ons niet duidelijk of u de intentie heeft om dieren van beide geslachten te gebruiken. Indien u alleen vrouwelijke of alleen mannelijke dieren gaat gebruiken, moet u deze keuze (wetenschappelijk) onderbouwen.

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Vriendelijke groet

[REDACTED]  
[REDACTED]  
Senior Adviseur

**Centrale Commissie Dierproeven**

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

-----  
Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
-----

E: [REDACTED]@rvo.nl

T: 0900 28 000 28

**Van:** ZBO-CCD  
**Verzonden:** donderdag 11 juni 2015 14:00  
**Aan:** [REDACTED]  
**Onderwerp:** RE: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Geachte [REDACTED]

Dank voor uw toelichting en vooral voor het heel handige en erg overzichtelijke schema dat u meegestuurd heeft. Nog een klein puntje: ik meen dat u in deze overzichtstabel onder Bijlage 4, kolom D2. één controlegroep, de PBS-groep, bent vergeten te vermelden. Kan u dit bevestigen en - indien van toepassing een aangepaste tabel - toezenden?

Tot slot wil ik u nog melden dat we nog geen projectaanvraagformulier met een zgn. "natte handtekening" hebben mogen ontvangen. Uw dossier is daarmee (naast het nog niet-betaald zijn van de leges) onvolledig. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Met vriendelijke groet

[REDACTED]  
Senior Adviseur

**Centrale Commissie Dierproeven**

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

-----  
Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
-----

E: [ZBO-CCD@minez.nl](mailto:ZBO-CCD@minez.nl)

T: 0900 28 000 28

---

**Van:** [REDACTED]  
**Verzonden:** woensdag 10 juni 2015 19:05  
**Aan:** ZBO-CCD  
**Onderwerp:** Re: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Geachte [REDACTED]

Bedankt voor uw email.

Ik heb de bijlages nog eens nagekeken en er is blijkbaar gedurende de tussentijdse revisies met IVD en DEC een fout in bijlage 1 geslopen, waardoor de tekst onder (B) hetzelfde is als in bijlage 3(B). Ik heb de juiste versie van bijlage 1 nu bijgevoegd.

Daarnaast heb ik een schema bijgevoegd waarin de inschatting van het aantal dieren inzichtelijker wordt gemaakt. Ik hoop dat dit voldoende informatie geeft.

Het geslacht van de muizen zal per experiment bepaald worden. Als er aanwijzingen zijn dat de farmacokinetiek van een stof beïnvloed wordt door de menstruele cyclus, dan zullen we gebruik maken van mannetjes. In de overige gevallen is er niet echt een reden te kiezen voor mannetjes of vrouwtjes. Wel zullen we binnen een experiment alleen dieren van een enkel geslacht gebruiken om eventuele variabiliteit te minimaliseren (bv in gewicht), zodat de groepen zo klein mogelijk gehouden kunnen worden.

Hopende u hiermee voldoende geïnformeerd te hebben,  
vriendelijke groet,

[Redacted signature]

--

[Redacted signature]

[REDACTED]

---

**Van:** [REDACTED]  
**Verzonden:** donderdag 11 juni 2015 17:20  
**Aan:** ZBO-CCD  
**Onderwerp:** Re: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"  
**Bijlagen:** 150611 schema dieren\_[REDACTED].nanomedicine.docx; Naamloze bijlage 00010.htm  
**Ondertekend door:** [REDACTED]@rug.nl

Geachte heer [REDACTED]

U heeft gelijk, de PBS groep ontbreekt inderdaad.  
Zie bijgevoegd de herziene versie, inclusief PBS groep.

Ik ga navragen bij onze organisatie wat de status is van leges en projectformulier.

Alvast bedankt,  
groet,  
[REDACTED]

**Van:** ZBO-CCD  
**Verzonden:** donderdag 11 juni 2015 17:55  
**Aan:** [REDACTED]  
**Onderwerp:** RE: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Geachte [REDACTED]

Vriendelijk dank.

U zou me enorm helpen mocht u mij nog voor morgenmiddag de digitale versie (origineel bestand of ingescande versie van de ondertekende projectaanvraag) van het projectaanvraagformulier mailen.

Vriendelijke groet

[REDACTED]  
Senior Adviseur

**Centrale Commissie Dierproeven**

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

-----  
Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
-----

E: [ZBO-CCD@minez.nl](mailto:ZBO-CCD@minez.nl)

T: 0900 28 000 28

---

**Van:** [REDACTED] [[mailto:\[REDACTED\]@rug.nl](mailto:[REDACTED]@rug.nl)]

**Verzonden:** donderdag 11 juni 2015 17:20

**Aan:** ZBO-CCD

**Onderwerp:** Re: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Geachte heer [REDACTED]

U heeft gelijk, de PBS groep ontbreekt inderdaad.  
Zie bijgevoegd de herziene versie, inclusief PBS groep.

Ik ga navragen bij onze organisatie wat de status is van leges en projectformulier.

Alvast bedankt,  
groet,  
[REDACTED]

[REDACTED]

---

**Van:** [REDACTED]  
**Verzonden:** vrijdag 12 juni 2015 9:09  
**Aan:** [REDACTED]; ZBO-CCD  
**Onderwerp:** RE: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"  
**Bijlagen:** [REDACTED] %20aanvraag%20(1).pdf

Beste [REDACTED]

Bijgaand de digitale versie van de ondertekende projectaanvraag. Het origineel is naar de CCD onderweg. Pas na ontvangst van de ontvangstbevestiging van de aanvraag (nu nog niet binnen) kan ik de factuur doorsturen naar [REDACTED] ter betaling. Dit gebeurt z.s.m.

met vriendelijke groet,

---

**Van:** [REDACTED] rug.nl]  
**Verzonden:** donderdag 11 juni 2015 18:00  
**Aan:** [REDACTED]  
**Onderwerp:** Fwd: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Hallo,

In navolging van mijn vorige email: is het mogelijk de CCD het ondertekende projectaanvraagformulier per email toe te sturen? (zie beneden)

Alvast bedankt,  
Groet  
[REDACTED]

Begin forwarded message:

**From:** ZBO-CCD <[ZBO-CCD@minez.nl](mailto:ZBO-CCD@minez.nl)>  
**Subject:** RE: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"  
**Date:** June11 2015 5:54:40 pm CEST  
**To:** "[REDACTED] [rug.nl](mailto:[REDACTED]@rug.nl)>

Geachte [REDACTED]

Vriendelijk dank.

U zou me enorm helpen mocht u mij nog voor morgenmiddag de digitale versie (origineel bestand of ingescande versie van de ondertekende projectaanvraag) van het projectaanvraagformulier mailen.

Vriendelijke groet

Senior Adviseur

**Centrale Commissie Dierproeven**

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: [ZBO-CCD@minez.nl](mailto:ZBO-CCD@minez.nl)

T: 0900 28 000 28

---

**Van:** [redacted] [\[redacted\]@rug.nl](mailto:[redacted]@rug.nl)

**Verzonden:** donderdag 11 juni 2015 17:20

**Aan:** ZBO-CCD

**Onderwerp:** Re: Vragen ter aanvulling projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Geachte heer [redacted]

U heeft gelijk, de PBS groep ontbreekt inderdaad.  
Zie bijgevoegd de herziene versie, inclusief PBS groep.

Ik ga navragen bij onze organisatie wat de status is van leges en projectformulier.

Alvast bedankt,  
groet,

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

---

De inhoud van dit bericht is vertrouwelijk en alleen bestemd voor de geadresseerde(n). Anderen dan de geadresseerde(n) mogen geen gebruik maken van dit bericht, het niet openbaar maken of op enige wijze verspreiden of vermenigvuldigen. Het UMCG kan niet aansprakelijk gesteld worden voor een incomplete aankomst of vertraging van dit verzonden bericht.



The contents of this message are confidential and only intended for the eyes of the addressee(s). Others than the addressee(s) are not allowed to use this message, to make it public or to distribute or multiply this message in any way. The UMCG cannot be held responsible for incomplete reception or delay of this transferred message.

**Van:** [REDACTED]  
**Verzonden:** vrijdag 17 juli 2015 11:18  
**Aan:** [REDACTED]@umcg.nl  
**Onderwerp:** Terugkoppeling aanvraag projectvergunning AVD105002015133

Geachte heer

Op 05 juni 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project "Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker" met aanvraagnummer AVD105002015133.

De CCD heeft besloten de vergunning, overeenkomstig uw advies, te verlenen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht.

Langs deze weg willen wij u graag informeren over de door de CCD toegekende aantallen dieren: het aantal vergunde dieren is in overeenstemming gebracht met de feitelijke berekening in het projectvoorstel; met andere woorden: het aantal dieren wordt niet naar boven afgerond.

Tot slot willen wij u graag bedanken voor uw advies.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

[REDACTED]  
Senior Adviseur

**Centrale Commissie Dierproeven**

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

-----  
Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
-----

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

T: 0900 28 000 28



## Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1 HPC: FA 29  
9713 AV Groningen  
Nederland

### Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.centralecommissiedierproeven.nl  
T 0900-28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD105002015133

**Uw referentie**  
8010

**Bijlagen**  
1

Datum 16 juli 2015

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 05 juni 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker" met aanvraagnummer AVD105002015133. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 10, 11 en 12 juni 2015 heeft u uw aanvraag aangevuld. U heeft een ingescande versie van het projectaanvraagformulier gemaild en een toelichting gegeven over de aantallen en het geslacht van de proefdieren.

### Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

U kunt met uw project "Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker" starten. De vergunning wordt afgegeven van 01 september 2015 tot en met 31 augustus 2020.

### Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1 lid 1d en lid 3 van de Wet op de dierproeven. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

### Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd d.d. 04 juni 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Alleen wordt het aantal vergunde dieren in overeenstemming gebracht met de feitelijke berekening in het projectvoorstel; met andere woorden: het aantal dieren wordt niet naar boven afgerond.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving liggen ten grondslag aan dit besluit.

### **Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in het colofon.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

### **Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

De Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



Ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

### **Bijlagen**

#### **- Vergunning**

- Hiervan deel uitmakend:
- DEC-advies
  - Weergave wet- en regelgeving



## Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Rijksuniversiteit Groningen  
Adres: A. Deusinglaan 1 HPC: FA 29  
Postcode en woonplaats: 9713 AV Groningen  
Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 01 september 2015 tot en met 31 augustus 2020, voor het project "Ontwikkeling van nanodragers systemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker" met aanvraagnummer AVD105002015133, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG. Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat het aantal vergunde dieren in overeenstemming gebracht is met de berekening in het projectvoorstel; met andere woorden: het aantal dieren wordt niet naar boven afgerond.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is assistant professor.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 05 juni 2015.
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 05 juni 2015;
  - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 05 juni 2015;
  - c. Advies van Dierexperimentencommissie, ontvangen op 05 juni 2015.
3. De op 10, 11 en 12 juni 2015 via E-mail aangeleverde aanvullingen.

### Dierproeven

| Naam dierproef                                   | Diersoort           | Aantal dieren | Ernst                    | Voorwaarden                                                                            |
|--------------------------------------------------|---------------------|---------------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 Farmacokinetiek & biodistributie               | Muis (Mus musculus) | 864           | licht                    | De biodistributie van nanodragers waar mogelijk wordt bestudeerd middels NIR of SPECT. |
| 2 Tumor accumulatie en therapeutische activiteit | Muis (Mus musculus) | 960           | 90% licht<br>10% ernstig |                                                                                        |
| 3 Farmacokinetiek & biodistributie               | Muis (Mus musculus) | 1152          | licht                    | De biodistributie van nanodragers waar mogelijk wordt bestudeerd middels NIR of SPECT. |
| 4 Tumor accumulatie en therapeutische activiteit | Muis (Mus musculus) | 576           | 90% licht<br>10% ernstig |                                                                                        |

Beoordeling achteraf zal uiterlijk op 30 november 2020 plaatsvinden.

### Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

**Datum**

16 juli 2015

**Onze referentie**

AVD105002015133

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat bij dierproeven 1 en 3 de biodistributie van nanodragers waar mogelijk wordt bestudeerd middels NIR of SPECT, teneinde te komen tot een vermindering van het aantal dieren.

## Weergave wet- en regelgeving

### Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

### Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

### Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

### Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

#### **Beoordeling achteraf**

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden. In dit project worden dierproeven toegepast waarbij die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van een beoordeling achteraf.

Deze beoordeling zal uiterlijk op 30 november 2020 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst van lijden van de proevendieren conform de vergunning waren.



---

# Format DEC-advies

---

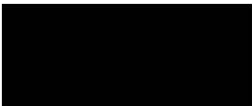
*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht*

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (interne RuG code **8010**)
2. Titel van het project: Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker.
3. Titel van de NTS: Ontwikkeling van nanodrager systemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker
4. Type aanvraag:  

☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC: DEC-RuG  

-naam **DEC-RUG**

-telefoonnummer contactpersoon 

-mailadres contactpersoon @umcg.nl
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ☐ ontvangen door DEC **12-05-2015**
  - ☐ aanvraag compleet **12-05-2015**
  - ☐ in vergadering besproken **21-05-2015**
  - ☐ anderszins behandeld **27-05-2015, 29-05-2015, 01-06-2015**
  - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot **26-27 mei, 28-29 mei**
  - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
  - ☐ aanpassing aanvraag **27-05-2015**
  - ☐ advies aan CCD **04-06-2015**
7. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t**
  - Datum

- Plaats
- Aantal aanwezige DEC-leden
- Aanwezige (namens) aanvrager
- Strekking van de vraag / vragen
- Strekking van het (de) antwoord(en)
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum **26-05-2015, 28-05-2015, 01-06-2015**

- Strekking van de vraag / vragen:

**Met name de optie te komen tot vermindering van het proefdiergebruik middels optimalisering van het aantal tijdstippen in de bio distributie studies en de rol van imaging daarbij.**

- Datum antwoord: **27-05-2015, 29-05-2015, 01-06-2015**

- Strekking van het (de) antwoord(en):

- **Toepassing van imaging daar waar mogelijk en vaststelling aantal tijdstippen in overleg met IvD.**

**De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag**

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): **n.v.t.**

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Expert advies

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet): **ja**
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag: **ja.**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren: **ja.**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: **n.v.t.**

## C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- ☒ uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
- ☐ uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
- ☐ uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord
- ☐ wettelijk vereist

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en): **ja**.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. **Immers voortgaande ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen bij sommige vormen van kanker is essentieel.**

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project, **waarbij duidelijk wordt voortgebouwd op voorafgaande resultaten uit *in vitro* onderzoek en fasering een belangrijk uitgangspunt is in het projectvoorstel.**

5. Ten aanzien van vermindering van het proefdiergebruik **wordt radioactieve c.q. fluorescente labeling toegepast teneinde het aantal tijdstippen en dito opoffering van dieren te verminderen.**

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd.

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen, **maar van belang is dat voorafgaand *in vitro* onderzoek een onlosmakelijk onderdeel is van het projectvoorstel.**

8. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie op het gebied van de ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen bij kanker.

9. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten

10. De niet-technische samenvatting maakt onderdeel uit van de aanvraag.

## D. Ethische afweging

De DEC ziet het belang van voortgaande ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen bij sommige vormen van kanker als essentieel. Terwijl *in vitro* onderzoek een onlosmakelijk onderdeel is van het projectvoorstel is het gebruik van proefdieren onvermijdelijk in onderhavig onderzoek, maar wordt daarnaast gestreefd naar vermindering van proefdiergebruik middels radioactieve c.q. fluorescente labeling. Op grond van alle voor de afweging relevante argumenten heeft de DEC de conclusie kunnen trekken dat het geplande onderzoek ethisch toelaatbaar is.

## E. Advies

### 1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarde

- ☐ **dat in dierproeven 1 en 3 bio distributie van nanodragers, waar mogelijk, wordt bestudeerd middels NIR of SPECT teneinde te komen tot vermindering van het aantal benodigde dieren.**

### 2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheids-minderheidsstandpunt

**Dit besluit is unaniem door de DEC genomen**



## Format

### Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

|                              |                                                                                                 |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.1 Titel van het project    | Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en diagnostische toepassingen in kanker |
| 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar                                                                                          |
| 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Nanomedicijnen, kanker, theranostics, chemotherapie                                             |

## 2 Categorie van het project

|                                              |                                                                                                                                   |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2.1 In welke categorie valt het project.     | <input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek                                                                        |
|                                              | <input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek                                                         |
|                                              | <input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie                                                   |
| <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | <input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier |
|                                              | <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

- |                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)</p> | <p>De behandeling van kanker met chemotherapie – medicijnen die kankercellen doden of remmen in hun groei – is meestal niet erg specifiek voor de kanker alleen. Na de toediening (via pil of infuus) verspreidt de stof zich over het gehele lichaam. Daardoor kunnen niet alleen zieke, maar ook gezonde cellen en weefsels worden aangevallen. Dit leidt tot (soms ernstige) bijwerkingen, zoals bloedarmoede, stollingsproblemen, infecties, diarree, zenuwaandoeningen en haarverlies.</p> <p>Daarom is de ontwikkeling van specifiekere medicijnen van groot belang. Het ontwerpen van een medicijn dat alleen de kankercel aanvalt en de gezonde cel met rust laat is echter moeilijk. Een andere methode voor het verbeteren van chemotherapie is het gebruik van nanodragers. Een nanodrager is een transportmodule, die ervoor zorgt dat het medicijn specifiek bij de tumor wordt afgeleverd. De hoeveelheid geneesmiddel in de het kankergezwell wordt hierdoor verhoogd, terwijl tegelijkertijd de hoeveelheid in gezonde weefsels wordt verlaagd. Dit project onderzoekt de ontwikkeling van deze nanodragers.</p> <p>Voor beeldvormende toepassingen voor het traceren van de kankerhaard geldt er een vergelijkbaar doel. Net zoals in de therapeutische toepassing, kan ook hier de strategie van een verhoogde hoeveelheid van de (in dit geval beeldvormende) actieve stof in het kankerweefsel toegepast worden. Dit, in combinatie met het voorkomen van ophoping in gezond weefsel, zal leiden tot een betere zichtbaarheid, wat gunstig is voor vroege detectie en diagnose van kanker.</p> |
| <p>3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?</p>         | <p>Wetenschappelijk<br/>Nieuwe inzichten in het gebruik van nanodragers voor kankertherapie</p> <p>Maatschappelijk<br/>Effectievere chemotherapie, die minder bijwerkingen vertoont in vergelijking tot conventionele geneesmiddelen.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <p>3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?</p>                                                                          | <p>Volwassen muizen, 3700</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <p>3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?</p>                                             | <p>Licht ongerief als gevolg van de toediening van medicijnen en het opwekken van kanker. Voor dieren waarbij kanker wordt opgewekt, beperkt de ziekte het functioneren van de muis doorgaans niet. Het is mogelijk dat er metastasen op zullen treden, er is in dit geval sprake van ernstig ongerief. Binnen het experimentele plan wordt het dier gedood voordat de kanker problemen op gaat leveren. Mocht dit toch het geval zijn, zoals pijn, dan zal het experiment worden beëindigd.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <p>3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de</p>                                                                                | <p>90% licht, 10% ernstig.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

verwachte ernst?

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

De muizen worden gedood en hun bloed, organen en de tumor worden geanalyseerd.

## 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.

Alle nieuwe nanodragers zullen eerst worden getest op kankercellen in een weefselkweek. Hier is al een redelijke inschatting te maken of de nanodragers effectief zullen zijn en vooral of deze veel bijwerkingen zullen vertonen. De toepasbaarheid in deze modellen is echter slechts beperkt. Voor verdere ontwikkeling – het bepalen of de nanodragers ook echt de hoeveelheid medicijn in het kankerweefsel verhogen, dan wel de hoeveelheid in de gezonde weefsels verlagen, en het bepalen of de effectiviteit verbeterd is – is een levend organisme nodig. Alternatieve methodes om dit betrouwbaar te voorspellen, zijn tot op heden nog niet beschikbaar.

### 4.2 **Vermindering**

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

Een gefaseerde studie opzet, waarbij eerst de meest veelbelovende nanodragers geïdentificeerd worden, zodat niet voorbarig meer belastende dierexperimenten worden gedaan.

Goede statistische onderbouwing waardoor de groepsgroottes niet te groot, maar ook niet te klein zijn (te klein kan leiden tot een onduidelijk resultaat en dus een verloren experiment).

### 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.

Er wordt gekozen voor muizen vanwege de uitgebreide kennis over en expertise met dit dier. Er is een groot aantal kankermodellen beschikbaar voor muizen. Het type kankermodel waarvoor is gekozen, is relatief snel en heeft een beperkte variabiliteit (de kankerontwikkeling en -groei is varieert niet veel tussen de muizen onderling) wat betekent dat de groepsgrootte beperkt kan zijn.

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

Om stress tegen te gaan, worden de muizen in groepen gehuisvest en krijgen ze nestmateriaal om zich zo goed mogelijk thuis te laten voelen. Ze worden met grote regelmaat geobserveerd, zodat pijn en ongerief in een vroeg stadium worden opgemerkt. Mocht er pijn optreden, dan krijgen ze pijnbestrijding of worden ze gedood.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



**Van:** ZBO-CCD  
**Verzonden:** woensdag 17 juni 2015 13:20  
**Aan:** [REDACTED]@umcg.nl  
**Onderwerp:** Ter informatie: Gevraagde aanvullingen projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker"

Geachte heer [REDACTED]

Hierbij zend ik u – ter informatie – de aanvullingen die wij hebben gevraagd aan [REDACTED], de verantwoordelijke onderzoeker van de projectaanvraag AVD105002015133 "Ontwikkeling van nanodragersystemen voor therapeutische en beeldvormende toepassingen in kanker" (uw ref. nr. 8010).

We hebben [REDACTED] enige toelichting bij en correctie van de aantallen aangevraagde proefdieren gevraagd en hem ook verzocht deze aantallen dieren overzichtelijk in een tabel weer te geven. Daarnaast hebben wij hem ook gevraagd of hij dieren van beide geslachten gaat gebruiken. [REDACTED] heeft ons deze aanvullingen toegezonden.

Met vriendelijke groet

[REDACTED]  
Senior Adviseur

**Centrale Commissie Dierproeven**

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: [ZBO-CCD@minez.nl](mailto:ZBO-CCD@minez.nl)

T: 0900 28 000 28