

	Inventaris Wob-verzoek W17-17								
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	Documenten 20171664	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Aanvraagformulier				x		x		
2	Projectvoorstel				x	x	x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage dierproeven oud				x	x	x	x	
5	DEC-advies oud				x		x		
6	Ontvangstbevestiging				x		x		
7	Verzoeken aanvulling adviezen				x		x		
8	DEC-advies nieuw				x		x		
9	DEC-advies nieuwst				x		x		
10	Bijlage dierproeven nieuw				x	x	x	x	
11	Adviesnota CCD		x						x
12	Beschikking en vergunning				x		x		



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.centralecommissiedierproeven.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? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 11800 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen																																
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td colspan="3">Academic Medical Center Amsterdam</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>343362777</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Meibergdreef</td><td></td><td>31</td></tr><tr><td>Postbus</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>1105AZ</td><td>Amsterdam</td><td></td></tr><tr><td>IBAN</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td colspan="3">AMC crediteurenadministratie Postbus 400 1115 ZJ Duivendrecht Kostenplaatsnummer: </td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	Academic Medical Center Amsterdam			Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde				KvK-nummer	343362777			Straat en huisnummer	Meibergdreef		31	Postbus				Postcode en plaats	1105AZ	Amsterdam		IBAN				Tenaamstelling van het rekeningnummer	AMC crediteurenadministratie Postbus 400 1115 ZJ Duivendrecht Kostenplaatsnummer:		
Naam instelling of organisatie	Academic Medical Center Amsterdam																																	
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde																																		
KvK-nummer	343362777																																	
Straat en huisnummer	Meibergdreef		31																															
Postbus																																		
Postcode en plaats	1105AZ	Amsterdam																																
IBAN																																		
Tenaamstelling van het rekeningnummer	AMC crediteurenadministratie Postbus 400 1115 ZJ Duivendrecht Kostenplaatsnummer:																																	
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Functie</td><td colspan="3">Universitair Docent (UD)</td></tr><tr><td>Afdeling</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td colspan="3"></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters				Functie	Universitair Docent (UD)			Afdeling				Telefoonnummer				E-mailadres															
(Titel) Naam en voorletters																																		
Functie	Universitair Docent (UD)																																	
Afdeling																																		
Telefoonnummer																																		
E-mailadres																																		
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Functie</td><td colspan="3">Onderzoeker in opleiding (OIO)</td></tr><tr><td>Afdeling</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td colspan="3"></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters				Functie	Onderzoeker in opleiding (OIO)			Afdeling				Telefoonnummer				E-mailadres															
(Titel) Naam en voorletters																																		
Functie	Onderzoeker in opleiding (OIO)																																	
Afdeling																																		
Telefoonnummer																																		
E-mailadres																																		
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Functie</td><td colspan="3">Onderzoeker in opleiding (OIO)</td></tr><tr><td>Afdeling</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td colspan="3"></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td colspan="3"></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters				Functie	Onderzoeker in opleiding (OIO)			Afdeling				Telefoonnummer				E-mailadres															
(Titel) Naam en voorletters																																		
Functie	Onderzoeker in opleiding (OIO)																																	
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 1 - 9 - 2017

Einddatum 1 - 9 - 2022

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Kwantificatie van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met 19F MRI

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Het meten van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met MRI

- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC DEC AMC

Postadres Meibergdreef 31
1105 AZ
Amsterdam

E-mailadres

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1035 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
- ☐

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 1.7). 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

Amsterdam

Datum

2 - 8 - 2017

Handtekening



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.centralecommissiedierproeven.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
- ☐ 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

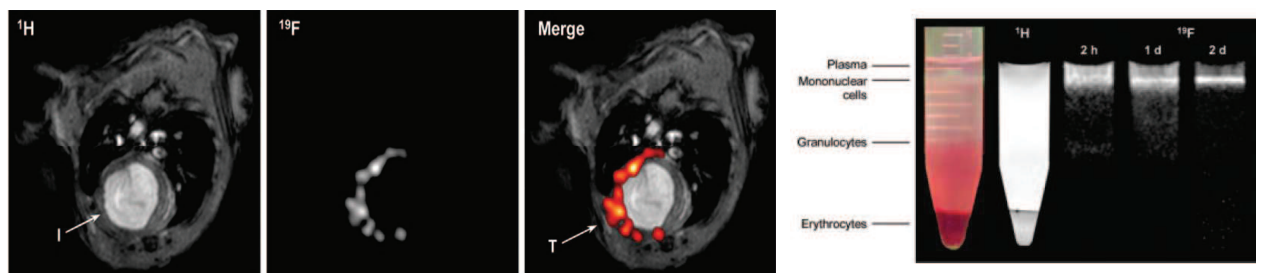
Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- 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.

De meest voorkomende verworven hartziekte is een hartinfarct. Hierbij kan verstopping van één van de kransslagaders leiden tot afsterving en dysfunctioneren van een gedeelte van het hart. De ontstekingsprocessen die volgen op een hartinfarct zijn essentieel voor herstel van het hartweefsel, echter, overactieve of langdurige ontstekingsreacties kunnen ook leiden tot permanente schade aan het hart. Het is daarom van groot belang om de locatie, de ernst en het tijdsverloop van de ontstekingsreactie in kaart te kunnen brengen om de behandeling van patienten te sturen en daarmee verslechtering van hartfunctie na een hartinfarct proberen te voorkomen.

Hoewel het mogelijk is om de ontstekingsgraad van het hart te bepalen met behulp van bipten of radioactieve tracers, is er een grote behoefte aan alternatieve, niet-invasieve en niet radioactieve technieken. In dit project willen wij op basis van magnetische resonantie beeldvorming (MRI) een nieuwe strategie onderzoeken die het mogelijk maakt om direct de ontstekingsgraad kwantitatief te kunnen volgen door gebruik te maken van ^{19}F (fluor) houdende MRI contrastmiddelen (vanaf hier ' ^{19}F nanodeeltjes' genoemd). Deze worden opgenomen door ontstekingscellen in de circulatie en daarna gerecruteerd naar locaties in het hart waar de ontstekingsreactie plaatsvindt. Omdat het lichaam van zichzelf geen fluor bevat, kunnen de MRI metingen zeer specifiek het signaal van de fluorhoudende ontstekingscellen detecteren. Daarnaast kunnen met MRI hoge-resolutie anatomische beelden van het hart zelf worden gemaakt, waardoor de locatie van de geaccumuleerde fluor nanodeeltjes heel nauwkeurig kan worden bepaald.

De mogelijkheid om met behulp ^{19}F MRI specifieke ophoping van ^{19}F nanodeeltjes te detecteren is eerder aangetoond (figuur 1). Tevens heeft men laten zien dat dit type nanodeeltjes specifiek worden opgenomen in monocytën, wat het een goede methode maakt om de ontstekingsgraad als gevolg van een hartinfarct te kunnen volgen (zie figuur 1). Echter, voordat een klinische translatie van deze techniek mogelijk wordt geacht om de ontstekingsprocessen in hartpatiënten **kwantitatief en over de tijd** te kunnen volgen, willen wij een aantal belangrijke facetten van deze techniek verder onderzoeken. Dit heeft betrekking op de optimale dosis, biodistributie en de **accuratesse van longitudinale metingen** met enkelvoudig of herhaalde toediening van de nanodeeltjes. Daarna willen we bestuderen hoe metingen van de ontstekingsrespons na een hartinfarct gebruikt kunnen worden om de hartfunctie op een later tijdstip te kunnen voorspellen. Tevens onderzoeken we of migratie van ontstekingscellen vanuit secundaire ontstekingsorganen (bijv. De milt) gedetecteerd kunnen worden en of het effect van ontstekingsremmende middelen op de ontstekingsreactie en de uiteindelijke hartfunctie gevoelig kan worden gekwantificeerd.



Figuur 1: detectie van ^{19}F nanodeeltjes in een muismodel van hartinfarct. (links) normaal anatomisch MRI beeld, samen met het ^{19}F specifiek MRI signaal en de overlay van beiden. (rechts) MRI metingen van bloedsamples die specifieke opname in ontstekingscellen laten zien.

Flogel et al. Circulation. 2008;118:140-148

Dit project heeft zowel een translationeel als fundamenteel karakter, waar we aan de ene kant een platform ontwikkelen om op basis van MRI niet-invasieve metingen ontstekingsprocessen in het hart te kwantificeren en aan de andere kant deze techniek kunnen gebruiken om meer inzicht te krijgen in hoe ontstekingsprocessen van invloed zijn op de hartfunctie. Het feit dat we met MRI longitudinale metingen kunnen doen in hetzelfde proefdier (en in de toekomst de patiënt) heeft een uiterst positief effect op de interpretatie van de verkregen resultaten, alsmede de translatie van deze techniek tot de kliniek.

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?

Algemeen doel: Het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken.

Het project bevat de volgende subdoelen:

1. Optimalisatie en histologische validatie van kwantitatieve MRI metingen van ontsteking in het hart met behulp van ^{19}F nanodeeltjes (Experiment 1)
2. Onderzoeken of ^{19}F MRI metingen van ontsteking in het hart een voorspellende waarde hebben voor de hartfunctie op een later tijdstip (Experiment 2)
3. Onderzoeken of ^{19}F MRI metingen met 2 type nanodeeltjes migrerende ontstekingscellen (vanuit secundaire immunologische organen) kunnen onderscheiden van lokale cellen (Experiment 3)
4. Onderzoeken of ^{19}F MRI metingen het effect van ontstekingsremmende middelen na een hartinfarct kunnen detecteren.

Alle subdoelen worden beantwoord door middel van MRI metingen in een muismodel van ischemie/reperfusie en staan samen beschreven in bijlage 1.

Haalbaarheid: Onze afdeling heeft ruime ervaring met karakterisering van muismodellen met behulp van MRI [refs 1-3] en heeft beschikking over een eigen preklinische MRI faciliteit om de experimenten op te zetten en uit te voeren. Wij hebben specifieke ervaring met muismodellen van ischemie/reperfusie van het hart, alsmede met de benodigde biochemische technieken voor validatie van de MRI technieken.

Het project maakt deel uit van een recent toegekende STW Open Technologie subsidie (■■■■■■, €0.75M) over ^{19}F MRI beeldvorming van ontsteking in diermodellen van een hartinfarct. Er zijn derhalve voldoende financiële middelen om personeel aan te stellen en materiaal aan te schaffen om de geplande experimenten uit te voeren. Het project gaat in samenwerking met de Katholieke Universiteit Nijmegen, welke de benodigde ^{19}F nanodeeltjes zullen leveren, die volgens GMP procedures geproduceerd worden. Voor het project wordt een looptijd van 5 jaar ingeschat om optimalisatie en validatie van de MRI technieken en daaropvolgende deelonderzoeken uit te kunnen voeren.



3.3 Belang

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

Wetenschappelijk doel

Ondanks dat er veel onderzoek gedaan is naar de rol van ontstekingsprocessen in relatie tot hartfalen, zijn er geen goede manieren om deze op een non-invasieve manier te kwantificeren. In dit project wordt een platform onderzocht om dit door middel MRI beeldvorming in combinatie met ^{19}F nanodeeltjes te bewerkstelligen is. ^{19}F MRI metingen vereisen specialistische hardware en software implementaties, welke beschikbaar zijn in onze groep. De toepassing van deze nieuwe technologie in een klinisch relevante setting van hart- en vaatziekten zal een enorme boost geven om deze technologie verder te ontwikkelen en te verfijnen. Het niet invasief kunnen volgen van ontsteking als alternatief voor bipten of radioactieve beeldvormingstechnieken zal ook voor klinisch onderzoek op cardiovasculair gebied grote impact kunnen hebben en nieuwe mogelijkheden bieden om in klinische trials zowel de korte als lange termijn effecten van ontstekingsremmende therapieën te kunnen volgen.

Maatschappelijk doel

Hartaanvallen komen jaarlijks bij ~30,000 mensen voor in Nederland en door nieuwe interventies zoals dotteren is de overleving na een hartaanval enorm toegenomen in de afgelopen decennia. Een onbedoeld neveneffect van deze verbeterde overleving is de toename in hartfalen, die voor een groot deel te wijten is aan mensen die een hartaanval overleeft hebben, maar waarbij de hartfunctie niet volledig hersteld is.

Het kunnen meten van de processen die een rol spelen bij infarcthealing, met name de ontstekingsreactie, is van cruciaal belang om gerichte therapieën te ontwikkelen die verslechtering van de hartfunctie en hartfalen kunnen voorkomen. In dit project wordt een nieuwe MRI techniek ontwikkeld met veelbelovende translatie naar de kliniek, waarmee ontstekingsprocessen in het hart gevolgd kunnen worden over de tijd. Hoewel patiënten met een hartinfarct een duidelijke doelgroep zijn voor het inzetten van deze technologie, zullen ook patiënten met myocarditis of een harttransplantatie (waar ontsteking een belangrijke rol speelt) hier enorm veel baat bij hebben.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

In dit project onderzoeken we een nieuwe MRI techniek om inflammatie in het hart na een hartinfarct te kunnen kwantificeren met behulp van ^{19}F MRI nanodeeltjes.

Het project bestaat uit 4 experimenten. In Experiment 1 willen we de MRI techniek om ontsteking in het hart te meten met behulp van ^{19}F nanodeeltjes optimaliseren en valideren. Hierbij wordt gekeken naar:

- de optimale dosis van de ^{19}F nanodeeltjes, hoog genoeg voor detectie van het ^{19}F MRI signaal in het infarctweefsel, maar laag genoeg om interferentie van achtergrondsignaal uit het bloed te voorkomen.
- de biodistributie van de ^{19}F nanodeeltjes in verschillende organen (hart, milt, lever, bloed)
- de correlatie van het in vivo gemeten ^{19}F MRI signaal met ex vivo verkregen MRI data, alsmede op histologie gebaseerde kwantificatie van ontstekingscellen.
- of de kwantificatie van ontsteking met ^{19}F MRI kan worden beïnvloed door de toegediende ^{19}F nanodeeltjes tijdens een voorafgaande MRI sessie.

Alleen als blijkt dat we met deze techniek de ontstekingsprocessen kwantitatief en longitudinaal kunnen volgen (**Go/no GO**), zullen de volgende experimenten worden uitgevoerd:

Experiment 2:

Het volgen van de ontstekingsrespons en de hartfunctie gedurende max 4 weken na ischemie/reperfusie en deze metingen te vergelijken met de hartfunctie vóór ischemie/reperfusie (baseline). Hieruit kunnen we bestuderen hoe metingen van de ontstekingsrespons een voorspellende waarde hebben voor het ontwikkelen van verminderde hartfunctie. Belangrijke waarden zijn hierbij het aantal ontstekingscellen in het hart als maat voor de ontstekingsrespons. Voor de hartfunctie zijn vooral metingen nodig om het linker ventrikel volume bij eind systole en diastole, wand dikte en ejectie fractie te kunnen berekenen.

Experiment 3:

Het is bekend dat ontstekingscellen vanuit de milt naar het hart kunnen migreren. In dit experiment onderzoeken we of met 2 onafhankelijk detecteerbare ^{19}F nanodeeltjes populaties van migrerende ontstekingscellen onderscheiden kunnen worden van lokale ontstekingscellen. Voor dit experiment wordt daarom één type nanodeeltje vóór inductie van het myocardinfarct toegediend (pre-loading). Hoewel het omhulsel van beide nanodeeltjes gelijk is, is er wel een verschil in de ingesloten fluor deeltjes. Hierdoor is er een verschil in MRI signalen die de deeltjes geven, waardoor ze afzonderlijk in hetzelfde dier gemeten kunnen worden. Voor een accurate interpretatie van dit experiment is het daarom noodzakelijk dat van beide deeltjes de dosis wordt geoptimaliseerd en de biodistributie wordt onderzocht zoals in experiment 1 wordt beschreven.

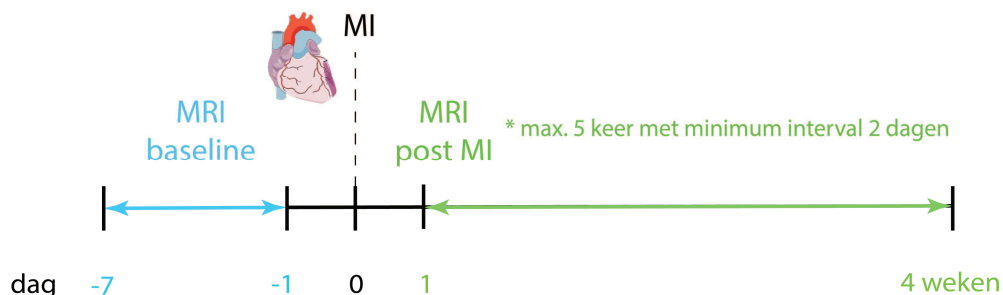
Experiment 4:

Onderzoeken of het mogelijk is het effect van ontstekingsremmende middelen (statines) na ischemie/reperfusie op de ontstekingsrespons te detecteren met ^{19}F MRI gedurende max 4 weken. Hiervoor gebruiken we naast wildtype C57Bl6 muizen ook ApoE $^{-/-}$ muizen. Deze dieren zullen op een hoog cholesterol dieet worden gezet en daardoor atherosclerose ontwikkelen, wat gepaard gaat met een hogere ontstekingsrespons. Vervolgens wordt aan de ApoE $^{-/-}$ muizen statines toegediend. Statines verminderen lipiden in atherosclerose, moduleren endotheel functie en bevatten een anti-inflammatoire rol. Ongeacht de aanwezigheid van een relatie tussen ontstekingsrespons en hartfunctie, verwachten we een effect van statines op ontstekingscellen en dit moet detecteerbaar zijn voor ^{19}F MRI.

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

Type dierproef

In alle experimenten wordt gebruik gemaakt van een muismodel van een hartinfarct, wat geïnduceerd wordt door middel van een ischemie/reperfusie operatie. Hierbij wordt één van de coronair arteriën (LAD) gedurende 30 minuten geoccludeerd. Het gebruiken van een ischemie/reperfusie model is klinisch relevant, omdat dit overeenkomt met de situatie waarbij een patiënt na een infarct gedotterd wordt. Ook gaat de reperfusie gepaard met een hogere mate van ontsteking en blijft het infarct gebied genoeg doorbloed, zodat de ^{19}F nanodeeltjes het infarct kunnen bereiken.



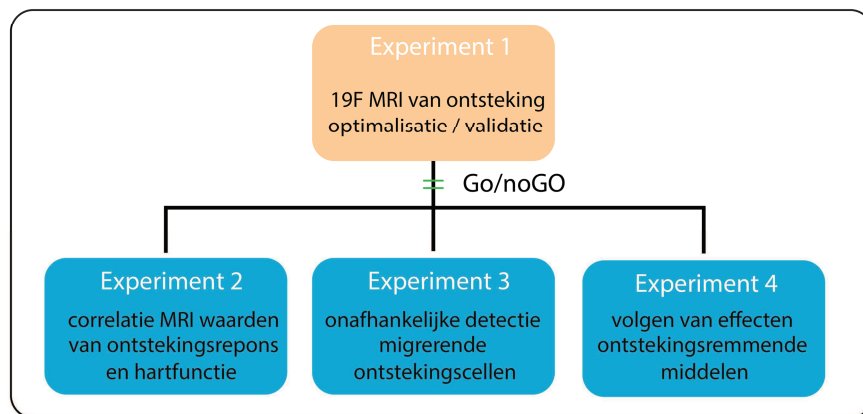
Figuur 2: tijdschema ischemie/reperfusie operatie en MRI metingen

Type experimenten

De verschillende experimenten zoals beschreven in 3.4.1 bevatten allen dezelfde soort handelingen en staan meer uitvoerig beschreven in bijlage 3.4.4.1. Hierbij is de maximale duur van de experimenten 5 weken, waarbij maximaal éénmaal MRI wordt uitgevoerd op baseline (vanaf 1 week tot 1 dag voor inductie van het myocardinfarct) en maximaal 5 maal vanaf 1 dag tot en met 4 weken na inductie van het myocardinfarct (figuur 2). De toediening van de ^{19}F nanodeeltjes vindt plaats 24 uur voorafgaande aan de MRI metingen. Na de laatste MRI meting worden de dieren opgeofferd voor histologische bepaling van ontstekingscellen.

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.

Kwantificatie van ontsteking na een hartinfarct met ^{19}F MRI



Figuur 3: samenhang en keuzemomenten van verschillende experimenten in het project.

Alle experimenten dragen bij aan de ontwikkeling van een nieuwe MRI methode om op een niet-invasieve manier ontstekingsprocessen in het hart na een hartinfarct te kwantificeren en meer inzicht te krijgen in hoe de ontstekingsrespons van invloed is op de hartfunctie op een later tijdstip (zie Figuur 3).

In Experiment 1 wordt de nieuwe MRI techniek voor het kwantificeren van ontsteking in het hart met ^{19}F nanodeeltjes geoptimaliseerd en gevalideerd. Na Experiment 1 is een **keuzemoment** gedefinieerd. Alleen als de resultaten van Experiment 1 een goede correlatie laten zien tussen het gemeten ^{19}F MRI signaal en histologisch bepaalde hoeveelheid ontstekingscellen, worden de experimenten 2-4 uitgevoerd. Deze experimenten zullen aantonen of het meten van de ontstekingsrespons over de tijd een voorspellende waarde heeft voor de uiteindelijke hartfunctie en de effecten van therapie op de ontstekingsrespons gemeten kunnen worden. Voor experimenten 1D en 3 zullen beide soorten nanodeeltjes gebruikt worden. Voor de andere experimenten wordt maar 1 nanodeel type gebruikt. Het is van belang 2 deeltjes met een variërende frequentie te gebruiken zodat er een onderscheid gemaakt kan worden tijdens acquisitie tussen deeltjes die op onafhankelijke tijdstippen van elkaar zijn geïnjecteerd.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	MRI in een muismodel van ischemie/reperfusie van het hart
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	11800	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Academic Medical Center Amsterdam	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3.4.4.1	MRI in een muismodel van ischemie/reperfusie van het hart

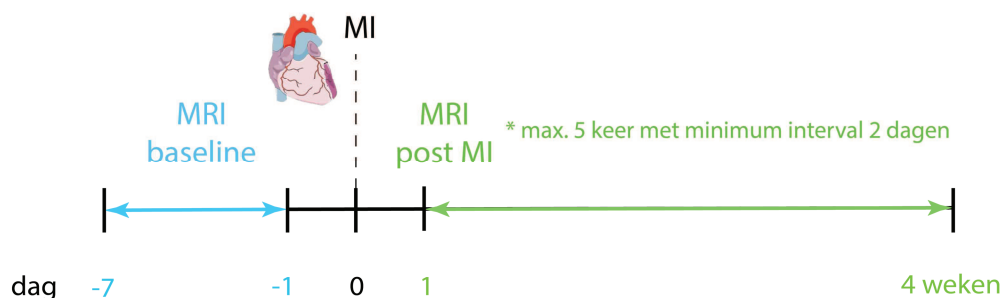
Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Het project bevat 4 verschillende experimenten. **Experiment 1** dient voor de ontwikkeling (optimalisatie en validatie) van een nieuwe MRI techniek en wordt uitgevoerd en beoordeeld voordat (**Go/noGO**) **Experimenten 2-4** aangevangen worden. Alle experimenten hebben de algemene opzet zoals beschreven in Figuur 1, waarbij tot maximaal 1 week vóór (baseline) en/of maximaal 5 maal na een myocardinfarct (MI) operatie (vanaf dag 1 tot max. 4 weken) MRI beeldvorming wordt uitgevoerd om hartfunctie te bepalen, alsmede voor karakterisatie van de ontstekingsrespons. Hiertoe wordt 24 uur voorafgaande aan een MRI meting een 19F (fluor) houdend MRI contrastmiddel toegediend, wat zich ophoopt in de ontstekingscellen en waarmee de ontstekingsgraad in het hart kan worden gekwantificeerd. Tussen opeenvolgende MRI metingen zit minimaal 2 dagen. Voor validatie zal gebruik worden gemaakt van histologie, immunofluorescentie microscopie en flow cytometrie.



Figuur 1: tijdsschema ischemie/reperfusie operatie en MRI metingen

Experiment 1. Ontwikkeling (optimalisatie en validatie) van kwantitatieve 19F MRI metingen van ontsteking in het hart

In dit experiment zullen we aantal aspecten van de nieuwe MRI techniek optimaliseren, alsmede valideren dat de MRI metingen een kwantitatieve relatie hebben tot histologische waarden van ontstekingsmarkers. Hiervoor worden wildtype C57Bl6 muizen gebruikt. Hiervoor wordt niet altijd het gehele tijdsverloop van Figuur 1 gevolgd.

De volgende deelexperimenten zijn gedefinieerd:

A. Dosis optimalisatie 19F nanodeeltjes (dag 0 – dag 1)

Op basis van literatuur en MRI metingen van fluor oplossingen wordt een geschikte concentratiereeks gekozen waarin wij de kwantificatielimiet voor inflammatie kunnen bepalen met de reeds ontwikkelde MRI scantechnieken.

Na ischemie/reperfusie (dag 0) wordt ieder dier met een specifieke concentratie uit de concentratiereeks geïnjecteerd en vervolgens na 24 uur gescand met MRI. Wij kiezen dit tijdstip omdat wij de initiële ontstekingsreactie op dag 1 willen kunnen detecteren. De optimale concentratie is de concentratie met het hoogste 19F MRI contrast tussen infarct en het bloed. Na de MRI meting worden de muizen opgeofferd.

De gevonden optimale dosis 19F nanodeeltjes wordt in de overige experimenten gebruikt.

B. Biodistributie 19F nanodeeltjes (dag 0 – 4 weken)

In dit experiment wordt de biodistributie (voornamelijk ophoping in lever, milt en eventueel lymfeklieren) van de 19F nanodeeltjes onderzocht in dieren met en zonder myocardinfarct en hoe het 19F MRI signaal in het infarct als functie van de tijd afneemt. Hiervoor worden 3 groepen muizen gebruikt: 1 ischemie/reperfusie groep, 1 sham groep en 1 controle groep om uit te sluiten dat de nanodeeltjes zelf een ontstekingsreactie veroorzaken. In dit experiment is de sham groep noodzakelijk om een goed beeld te krijgen van in hoeverre de biodistributie wordt beïnvloed door alleen de inflammatoire reactie na de infarct operatie zelf (incisie en hechting om het infarct te induceren). Ook geeft de sham groep waardevolle informatie over zowel de grootte als de plaats van het eventuele 19F MRI signaal van ontsteking enkel ten gevolge van de operatie en niet van het daadwerkelijke infarctweefsel. In dit experiment worden de 19F nanodeeltjes 1 maal toegediend op dag 0 en wordt maximaal 5 maal MRI gedaan. Na de laatste scan (4 weken) worden de dieren opgeofferd.

Er zijn 2 typen nanodeeltjes beschikbaar, die unieke MRI signalen geven en daarom afzonderlijk in hetzelfde dier gemeten kunnen worden (zie experiment 1D). Experimenten A en B wordt daarom voor beide deeltjes uitgevoerd. Voor een accurate interpretatie van experiment migratie cellen milt is het noodzakelijk dat van beide deeltjes de optimale dosis wordt toegepast en dat voor beide deeltjes de biodistributie bekend is.

C. Immunologische validatie (dag 0 – 4 weken)

Voor het implementeren van 19F MRI als valide methode om inflammatie te meten, moet eerst worden aangetoond dat het 19F MRI signaal in het infarct correleert met de histologisch bepaalde ontstekingswaarden. Hiervoor ondergaan de dieren een ischemie/reperfusie operatie op dag 0.

Om een grote range van ontstekingsgraad te garanderen (nodig voor validatie), worden voor verschillende dieren de 19F nanodeeltjes op verschillende tijdstippen toegediend en na 24 uur met MRI gemeten. Na de MRI scan worden de dieren opgeofferd voor histologische validatie. Het is van essentieel belang voor de voortgang van dit onderzoek dat de gemeten inflammatie onafhankelijk van tijd na MI correleert met de histologisch bepaalde inflammatie.

D. Interferentie nanodeeltjes (dag 0 – 1 week)

Om longitudinaal metingen te kunnen doen, is het van belang dat er meerdere keren in het totale traject een nanodeeltjes injectie wordt toegediend. In dit experiment willen we weten of het meerdere malen toedienen van de 19F nanodeeltjes invloed heeft op de kwantificatie waarden van de ontsteking. We willen hierbij onderzoeken of de ophoping van nanodeeltjes in het infarct weefsel als gevolg van een lange retentie tijd, invloed heeft op een follow up meting waarbij weer nanodeeltjes injectie plaatsvindt. De interferentie van de nanodeeltjes kan worden onderzocht door op verschillende tijdstippen na toediening van de 19F nanodeeltjes MRI scans te maken en gebruik te maken van 2 typen afzonderlijk detecteerbare nanodeeltjes. De dieren worden maximaal 1 week gevolgd na ischemie/reperfusie (dag 0). Gedurende week 1 wordt

maximaal 3 maal MRI uitgevoerd (minimaal interval 48 uur) en worden maximaal 2 maal ¹⁹F nanodeeltjes toegediend (24 uur vóór MRI). Na de laatste MRI scan worden de dieren opgeofferd en gebruikt voor histologie. Dit experiment zal uitwijzen wat het minimale interval is waarop de ¹⁹F nanodeeltjes toegediend kunnen worden om de ontsteking na een infarct longitudinaal te kunnen volgen.

Experimenten 2-4 worden uitgevoerd mits uit Experiment 1 is gebleken dat wij door toediening van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons op een kwantitatieve manier kunnen volgen over de tijd.

Deze experimenten zullen ons meer informatie verschaffen over hoe metingen van de ontstekingsrespons na een infarct informatie kunnen geven over het effect op de hartfunctie.

Experiment 2. Correlatie ¹⁹F MRI meting ontstekingsrespons en hartfunctie (baseline / dag 0 – 4 weken)

In dit experiment willen we onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen van ontsteking een voorspellende waarde hebben voor de hartfunctie op een later tijdstip. Naast een groep die ischemie/reperfusie ondergaat, worden ook een controle en sham operatie groep gebruikt. In dit experiment is een sham ook noodzakelijk omdat enkel de inflammatie als gevolg van ischemie/reperfusie schade aan het hart in relatie moet worden gebracht met de hartfunctie op een later tijdstip. Hiermee kan worden nagegaan of inflammatie als gevolg van de operatie zelf (incisie en hechting om het infarct te induceren) een verstorende factor is in de associatie tussen myocard inflammatie en hartfunctie. Alle dieren worden gemeten volgens het schema in Figuur 1, met 1 MRI meting op baseline en maximaal 5 MRI metingen na ischemie/reperfusie. Er wordt een minimale rustperiode van 48uur tussen opeenvolgende MRI metingen toegepast. 24 uur vóór iedere MRI meting worden ¹⁹F nanodeeltjes toegediend om de ontstekingsrespons met MRI te kwantificeren. Na 4 weken worden de dieren opgeofferd en gebruikt voor histologie.

Experiment 3. Onafhankelijke detectie migrerende ontstekingscellen (baseline / dag 0 – 4 weken)

Met dit experiment willen we laten zien of we met de MRI metingen de mogelijke migratie van ontstekingscellen van de milt naar het hart kunnen kwantificeren. Hiervoor worden ¹⁹F nanodeeltjes 2 dagen vóór het infarct toegediend en wordt 1 dag voor het infarct MRI gedaan om ophoping van de nanodeeltjes in de milt te kwantificeren. Na ischemie/reperfusie worden de dieren maximaal 4 weken gevolgd met MRI (Figuur 1). Er zijn 4 groepen gedefinieerd, waarvan 3 groepen op verschillende dagen na ischemie/reperfusie een tweede type ¹⁹F nanodeeltje krijgt om onafhankelijk van de eerste toediening de ontsteking in het hart te kunnen meten met MRI. Na de laatste MRI meting worden de dieren opgeofferd en gebruikt voor histologische bepalingen van ontstekingscellen in het hart en milt.

Experiment 4. Volgen van effecten ontstekingsremmende middelen (baseline / dag 0 – 4 weken)

In dit experiment willen we laten zien of de MRI metingen het effect van ontstekingsremmende middelen (statines) kunnen kwantificeren en hoe deze middelen na een myocardinfarct invloed hebben op het tijdsverloop van de ontstekingsreactie en latere hartfunctie. De statines worden na het infarct via het drinkwater toegediend. De ontstekingsremmende middelen kunnen de ontsteking als gevolg van de operatie mogelijk ook beïnvloeden. Omdat we uiteindelijk de MRI metingen van de verlaagde ontsteking willen relateren aan veranderingen in de hartfunctie, moeten we ook een goed beeld hebben van het gemeten MRI signaal van ontsteking enkel als gevolg van de operatie.

Voor dit experiment worden naast wildtype C57BL6 dieren ook ApoE^{-/-} dieren gebruikt die in combinatie met een hoog cholesterol dieet atherosclerose ontwikkelen, waardoor een situatie met verhoogde inflammatie wordt gecreëerd. Er zijn 3 groepen C57BL6 nodig (ischemie/reperfusie / sham / controle) die behandeling met statines ondergaan en 6 groepen ApoE^{-/-} nodig (wel of geen behandeling). In de ApoE^{-/-} wordt een verhoogde inflammatie verwacht in het myocard-infarct-weefsel. Om een eventueel verhoogde inflammatie als gevolg van de operatie uit te sluiten, zal voor deze groepen muizen ook een sham operatie noodzakelijk zijn. Alle dieren worden gemeten volgens het schema in Figuur 1, met 1 MRI meting op baseline en maximaal 5 MRI metingen na ischemie/reperfusie. 24 uur vóór iedere MRI meting worden ¹⁹F nanodeeltjes toegediend om de ontstekingsrespons met MRI te kwantificeren. Na 4 weken worden de dieren opgeofferd en gebruikt voor histologie.

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.

Ischemie/reperfusie operatie

In de infarct groepen uit Experimenten 1-4 wordt ischemie/reperfusie toegepast door tijdelijke occlusie (30 min) van de LAD coronair arterie. Hierbij wordt een ligatuur om de arterie geplaatst en aangetrokken om ischemie te induceren gedurende 30 min. en vervolgens weer losgemaakt voor reperfusie. Voorafgaande aan de operatie worden de dieren onder algehele narcose gebracht met adequate analgesie peri-operatief, waarna de dieren worden geïntubeerd. Verder wordt de muis peri-operatief warm gehouden om hypothermie te voorkomen.

Om de mate van ontsteking als gevolg van de directe operatieve handelingen (onafhankelijk van ischemie) te bepalen, zijn in experimenten 1B, 2 en 4 ook sham groepen toegevoegd. Hierbij wordt ook een ligatuur aangebracht om de LAD coronair arterie, echter wordt deze niet aangetrokken.

MRI

Voorafgaand aan en tijdens MRI worden de dieren onder anesthesie gebracht m.b.v. een inhalatie anestheticum. De temperatuur van het dier wordt gemeten met een rectal probe, terwijl de temperatuur in de MRI constant wordt gehouden met warme lucht. In het geval infarctgrootte wordt bepaald met MRI wordt vóór de MRI sessie onder algehele anaesthesie een katheter aangelegd in de staartvene voor injectie van een standaard klinisch contrastmiddel tijdens de MRI sessie (niet specifieke ophoping in infarct gebied). Vervolgens wordt het dier in de MRI scanner geplaatst. Een MRI sessie duurt maximaal 2.5 uur, waarin de volgende metingen gedaan kunnen worden:

- Voorbereidende scans om de goede oriëntatie van de volgende scans te bepalen.
- Hartfilmpjes op verschillende hoogtes (base tot apex) van het hart voor bepaling van de hartfunctie.
- Contrast-versterkte scans van het hart (15 min na toediening standaard klinisch contrastmiddel) om infarctgrootte te bepalen.
- ^{19}F (fluor) metingen van ontsteking in het hart door ophoping van ~~reeds~~ toegediende ^{19}F nanodeeltjes te kwantificeren. Dit is de methode die we verder willen ontwikkelen, waarvan de optimalisatie in Experiment 1 wordt beschreven.

De muizen worden maximaal 6 keer binnen 5 weken (inclusief baseline) gescand met minimaal 48uur tussen opeenvolgende scans (zie Figuur 1). Dit is nodig om longitudinaal een verband te kunnen leggen tussen het gemeten ^{19}F MRI signaal en het verloop van de inflammatie. Tijdens de MRI sessie wordt de temperatuur van de muis gemonitord met een rectal probe en wordt de temperatuur in de MRI constant gehouden met behulp van warme lucht. Na de laatste MRI meting, worden de muizen opgeofferd voor histologische validatie met behulp van NMR spectroscopie, immunofluorescentie microscopie en/of flow cytometrie.

Toediening ^{19}F (fluor) nanodeeltjes

Fluor houdende MRI contrastmiddelen (^{19}F nanodeeltjes) worden geïnjecteerd via een katheter, aangebracht in de staart vene. Dit gebeurt 24 uur voor aanvang van iedere MRI sessie (Figuur 1). In het geval op dag 1 na ischemie/reperfusie MRI wordt gedaan, zal de toediening van ^{19}F nanodeeltjes plaatsvinden vlak na de operatie voordat de dieren uit de anesthesie zijn.

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

Voor sommige experimenten wordt gebruikt gemaakt van de formule van Sachs die het benodigd aantal dieren berekend aan de hand van het verwachte effect (δ) en de verwachte spreiding (σ) tussen de dieren in dezelfde groep. Wij hanteren een significantie level van 0.05 en een power van 0.8, wat een F-waarde geeft van 15.7 Hierdoor wordt het aantal dieren gegeven bij gebruik van de formule van Sachs gegeven door:

$$n = 15,7 * (\sigma/\delta)^2$$

Experiment 1. Ontwikkeling (optimalisatie en validatie) van kwantitatieve ^{19}F MRI metingen van ontsteking in het hart

A. Dosis optimalisatie ^{19}F nanodeeltjes

Voor een goede detectiecurve die ons de optimale dosis geeft voor de toegediende ^{19}F nanodeeltjes denken wij $n = 15$ dieren nodig te hebben.

B. Biodistributie ^{19}F nanodeeltjes

De distributie van nanodeeltjes wordt bepaald door de dieren meerdere keren te scannen (dag 0 – 4 weken). Doordat er geen groepen muizen per tijdstip worden opgeofferd is het aantal benodigde dieren minimaal. Er worden **3** groepen dieren gebruikt (ischemie/reperfusie, sham en controle). Op basis van eerdere ervaringen passen wij uitvalspercentages van respectievelijk **30%**, **20%** en **10%** toe. Dit houdt rekening met complicaties tijdens en na de ischemie/reperfusie (of sham) operatie, maar ook de mogelijke onbruikbaarheid van de MRI data. Per groep zijn **10** muizen nodig om de variatie in biodistributie goed te kunnen schatten. Het volgende aantal dieren zijn dus nodig:

Ischemie/reperfusie: $(n - 0.3n) = 10$; $n = 15$

Sham: $(n - 0.2n) = 10$; $n = 13$

Controle: $(n - 0.1n) = 10$; $n = 12$

Totaal: $n = 40$.

C. Immunologische validatie

Voor de immunologische validatie worden MRI resultaten vergeleken met histologische waarden van ontsteking. Voor ieder dier vindt MRI plaats op 1 dag, maar om een range in ontstekingswaarden te garanderen (nodig voor validatie) kan de precieze dag variëren tussen 0 – 4 weken na ischemie/reperfusie.

Om de correlatie tussen MRI en histologisch waarde nauwkeurig te kunnen bepalen, denken wij **30** dieren nodig te hebben. Voor deze groep wordt een uitvalspercentage van **30%** gehanteerd.

Dit geeft dus: $(n - 0.3n) = 30$; $n = 43$

D. Interferentie nanodeeltjes

Er zijn **3** groepen dieren nodig waarbij iedere groep een andere combinatie van MRI scandagen (en toediening ^{19}F nanodeeltjes) heeft. Om de interferentie van de deeltjes voor opeenvolgende metingen te kunnen bepalen moet een verschil in MRI signaal tussen de groepen kunnen worden opgepikt. Het minimaal te detecteren effect moet 20% zijn, maar we verwachten dat de spreiding ook 20% is.

Met gebruik van de formule van Sachs komen we dan op $15,7 * (20/20)^2 = 16$ dieren per groep.

Voor deze groepen wordt een uitvalspercentage van **30%** gehanteerd.

Dit geeft dus: $(1/3)*(n - 0.3n) = 16$; $n = 69$

Er zijn **2** typen nanodeeltjes beschikbaar, die unieke MRI signalen geven en daarom afzonderlijk in hetzelfde dier gemeten kunnen worden (zie experiment 1D). Experiment 1A en 1B wordt daarom voor beide deeltjes uitgevoerd.

Het totaal aantal dieren voor Experiment 1 komt daarmee op $2*(15+40) + 43 + 69 = 222$.

Experiment 2,3 en 4

Ons onderzoek is gericht op metingen van inflammatie in het hart om zodoende de ontwikkeling van hartfalen na een infarct beter te begrijpen. Hiervoor willen we verschillen in ontsteking (minimaal 20%) als functie van de tijd kunnen detecteren. Wel verwachten we dat de spreiding in de groepen m.b.t. de ontsteking ook groot zal zijn (20%).

Met behulp van de formule van Sachs is de groepsgrootte bepaald op $n = 16$ dieren.

In onderstaande tabel staan per experiment het aantal ischemie/reperfusie, sham en controle groepen

		Ischemie/ reperfusie	Sham	Controle
Experiment 2	C57Bl/6	1	1	1
Experiment 3	C57Bl/6	4		
Experiment 4	C57Bl/6	1	1	1
	C57Bl/6 ApoE-/-	2	2	2

De groepen (ischemie/reperfusie, sham, controle) hebben een respectievelijk uitvalspercentage van **30%**, **20%** en **10%**, uitgaande van uitval tijdens ischemie/reperfusie of tijdens het verdere tijdsverloop van de MRI metingen, wat respectievelijk een groepsgrootte geeft van 23, 20 en 18 dieren.

Dit geeft een totaal aantal dieren van:

		Ischemie/ reperfusie	Sham	Controle
Experiment 2	C57Bl/6	23	20	18
Experiment 3	C57Bl/6	92		
Experiment 4	C57Bl/6	23	20	18
	ApoE-/-	46	40	36

De optimalisatie van de MRI techniek in Experiment 1 voorkomt dat wij Experimenten 2-4 moeten herhalen met verschillende typen 19F nanodeeltjes. Hierdoor wordt het totale aantal dieren sterk verminderd.

B. De dieren

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

Diersoorten en levensstadia

In dit onderzoek willen we muizen gebruiken tussen de 8 en 11 weken. Dit zijn volwassen muizen die standaard worden gebruikt voor onderzoek in hartfalen. Verder is het immuunsysteem van de muis voldoende te vergelijken met dat van de mens. Voor de meeste experimenten gebruiken we wildtype C57Bl6 muizen. Alleen voor de deelonderzoeken met statine behandeling (Experiment 3 4) zullen we ApoE-/- muizen gebruiken, omdat dit muizenmodel een atherosclerose model is met een verhoogde inflammatie en waarop een statine behandeling een duidelijk effect zal weergeven.

Geslacht

In dit onderzoek worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt. De diversiteit in de ontstekingsrespons als gevolg van verschillen in geslacht is geen probleem in dit onderzoek omdat door de longitudinale metingen elk dier ook zijn eigen controle is.

Herkomst

De muizen worden besteld bij een geregistreerd fok- of afleveringsbedrijf.

Geschatte aantallen

Voor gedetailleerd uitleg, zie boven.

Er zijn in totaal 436 C57BL/6 muizen nodig.
Er zijn in totaal 122 C57BL/6 ApoE-/- muizen nodig.
Het totaal aantal muizen voor dit project komt dan uit op **558**.

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. De nanoparticles zijn eerst in vitro getest op celkweek. Hierbij is vastgesteld dat de nanodeeltjes worden opgenomen door ontstekingscellen en dat de functie en fenotype van de ontstekingscellen niet worden beïnvloed door de nanodeeltjes. In ons onderzoek willen we laten zien dat we de ontstekingsrespons na een myocardinfarct longitudinaal kunnen volgen en kwantificeren met niet-invasieve MRI technieken. Dit kan alleen gebruik makend van in vivo studies.

Vermindering. Doordat in vivo longitudinaal wordt gemeten zijn er minder muizen per groep nodig dan het geval zou zijn als bij elk tijdstip de muizen getermineerd moeten worden voor histologische weefsel analyse. Verder is voor iedere groep dieren een inschatting gemaakt van de het minimale gewenste effect en de verwachte spreiding en hier is het aantal dieren op aangepast.

Verfijning. Dit onderzoek wordt uitgevoerd met C57Bl6 muizen die standaard voor hartonderzoek wordt gebruikt. Ook het immuunsysteem van de muis is voldoende vergelijkbaar met dat van de mens om de resultaten van dit onderzoek transleerbaar te maken naar de mens. Verder is het mogelijk de genen geassocieerd met hartfalen te manipuleren in een muismodel en de invloed van genen op de ontstekingsreactie na een hartinfarct te onderzoeken.

Alle handelingen met dieren worden uitgevoerd door ervaren biotechnici om zo het ongerief van het dier per handeling zo laag mogelijk te houden. De handelingen beschreven in dit project staan beschreven in de literatuur en geven betrouwbare data. MRI is de gouden standaard methode voor de evaluatie van hartfunctie in diermodellen. Op dit moment hanteren wij maximaal 2.5 uur (vanaf narcose inductie) om alle benodigde informatie met voldoende kwaliteit te kunnen meten. Wij werken echter continue aan nieuwe MRI methodologie om scanprotocollen sneller te maken. Om uitdroging tijdens de MRI sessie te voorkomen wordt subcutaan vocht toegediend. Ook wordt oogzalf aangebracht om uitdroging van de ogen te voorkomen.

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.

Naast het vervangen, verminderen en verfijnen van de dierproeven om het totale ongerief van de dieren te verminderen, worden ook maatregelen genomen om de pijn, lijden en angst bij dieren te beperken zoals:

- Voordat met experimenten wordt begonnen, zullen we de dieren laten acclimatiseren aan de huisvesting en de handelingen van de onderzoeker.
- De dieren uit één groep worden zoveel mogelijk samen gehuisvest, nadat alle dieren met randomisatie worden ingedeeld in groepen. Het dag-nacht ritme wordt ook omgedraaid zodat de dieren in de avond slapen en overdag gescand kunnen worden.

- De dieren worden dagelijks gecontroleerd en ook tijdens de experimenten gecontroleerd op gedrag of lichaamsverschijnselen die duiden op discomfort.
- Pijnbestrijding bij ischemie/reperfusie wordt peri-operatief gegeven.

MRI wordt gedaan onder anesthesie (isofluraan), waardoor de dieren geen last ondervinden van de MRI sessies. Ook wordt tijdens de MRI sessie de temperatuur, ademhaling en hartslag bijgehouden om te toestand van het dier te monitoren. Het bijkomen uit de anesthesie na de MRI sessie kan licht ongerief geven, daarom laten we dieren bijkomen in een recovery chamber.

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.

NVT

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 > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Het induceren van een myocardinfarct alsmede de sham operatie geeft matig ongerief als gevolg van 1-2

dagen post-operatieve pijn. Daarom wordt de operatie verricht onder narcose en worden de dieren met pijnstilling behandeld. Hierbij worden pijnstilling gebruikt dat zo min mogelijk effect heeft op de ontstekingsprocessen. In de andere experimenten wordt geen pijn verwacht.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- 1) Het myocard infarct kan gewichtsverlies, verminderde activiteit en kortademigheid veroorzaken en ontstaat sporadisch infectie van de wond
- 2) Na de sham operatie kan infectie van de wond ontstaan.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- 1) De operatie voor het induceren van het myocardinfarct en het myocardinfarct zelf.
- 2) De sham operatie (wel ligatuur, geen ischemie).

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

Als de geopereerde muizen door verminderde activiteit last ondervinden van kooigenoten, zullen deze muizen tijdelijk apart worden gehuisvest. De dieren worden goed gemonitord en er wordt op gelet dat de humane eindpunten niet worden overgeschreden (zie punt J).

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.

Aan het eind van elk experiment worden de dieren opgeofferd. De dieren ontwaken na de laatste MRI metingen niet meer uit de anesthesie en worden opgeofferd middels perfusie-fixatie.

Humane eindpunten zijn: ernstig bloedverlies tijdens myocardinfarct (of sham) operatie of tekenen van ernstig ongerief na operatie verlies van 15% van het lichaamsgewicht ten opzichte van gewicht voor operatie, infectie van de wond, kortademigheid, uitdrogingsverschijnselen of hoog op de pootjes, bolle rug, ruwe vacht en/of inactief.

De (vervanger) verantwoordelijke onderzoeker en ARIA medewerkers zullen toezicht houden op de dieren.

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

We verwachten dat ongeveer 15% van de dieren de kans lopen deze criteria te halen

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.

Cumulatief ongerief	Percentage dieren	Ingrepen	Groepen
Licht	17.4%	-MRI -Injectie contrast -Anesthesie -Euthanasie onder verdoving	1B controle 2 controle 4 controle
Matig	82.6%	-Ischemie/reperfusie	1A

		of sham operatie -MRI -Injectie contrast -Anesthesie -Euthanasie onder verdoving	1B sham en IR operatie 1C 1D 2 sham en IR operatie 3 4 sham en IR operatie
--	--	--	---

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

Aan het einde van de proef is het essentieel om de dieren te doden, omdat de organen nodig zijn voor histologische validatie.

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

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

A. Algemene gegevens over de procedure

Bij de punten 1 t/m 7 dienen altijd de gevraagde gegevens te worden ingevuld.

1. Aanvraagnummer
2. Titel van het project **Kwantificatie van ontsteking na een hartinfarct met ¹⁹F MRI**
3. Titel van de NTS **Het meten van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met ¹⁹F MRI**
4. Type aanvraag:
 - ☒ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
 - ☐ ~~wijziging van vergunning met nummer~~
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC **DEC-AMC**
 - telefoonnummer contactpersoon **[REDACTED]**
 - e-mailadres contactpersoon **[REDACTED]**
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☐ ontvangen door DEC
 - ☐ aanvraag compleet
 - ☐ in vergadering besproken **13-07-2017**
 - ☐ anderszins behandeld
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - ☐ aanpassing aanvraag
 - ☐ advies aan CCD
7. Afstemming IvD

De relevante onderdelen van de vergunningaanvraag (projectvoorstel en bijlagen) zijn in een traject voorafgaand aan de indiening ervan bij de DEC in overleg met de IvD tot stand gekomen.
8. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrek(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Gestelde vraag/vragen
 - Datum antwoord

- Verstrekt(e) antwoord(en)
- De antwoorden hebben ~~wel~~/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

10. 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
- Advies expert

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.

> Ja

Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.

2. De aanvraag betreft > een nieuwe aanvraag.

3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?

> Ja

4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.

> Nee

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).

1. Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling (Het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken) en kan getypeerd worden als een project met vier subdoelen waarvan na het slagen van experiment 1 de volgende drie onderling geen relatie of tijdsafhankelijkheid hebben. De vier subdoelen zijn: 1. Optimalisatie en histologische validatie van kwantitatieve MRI metingen van ontsteking in het hart met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes (Experiment 1), 2. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen van ontsteking in het hart een voorspellende waarde hebben voor de hartfunctie op een later tijdstip (Experiment 2), 3. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen met 2 type nanodeeltjes migrerende ontstekingscellen (vanuit secundaire immunologische organen) kunnen onderscheiden van lokale cellen (Experiment 3), 4. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen het effect van ontstekingsremmende middelen na een hartinfarct kunnen detecteren

De vier subdoelen dragen ieder bij aan het bereiken van de hoofddoelstelling. De vier subdoelen zijn volledig en duidelijk uitgewerkt en elk subdoel levert een bijdrage aan het hoofddoel. Dit maakt de aanvraag tot een navolgbaar geheel. Het project lijkt haalbaar, afgaande op het voorwerk en ervaring van deze onderzoekers, de omvang en de aangegeven tijdsspanne.

Het is helder welke handelingen en ongerief individuele dieren zullen ondergaan in de dierproeven die nodig zijn om de subdoelen te bereiken.

Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

2. Geef aan of er aspecten in deze aanvraag zijn die niet in overeenstemming zijn met wet- en regelgeving anders dan de Wod? Denk hierbij aan bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren. Indien van toepassing, leg uit om welke aspecten het gaat en waarom hier sprake van is.

> Niet, voor zover kan worden opgemaakt uit de aanvraag.

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.

> De aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling. Er wordt fundamenteel onderzoek en toegepast gedaan naar Het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een reële relatie is tussen beide doelstellingen (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

> Het directe doel van het project is het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken

Het betreft hier zowel fundamenteel onderzoek als translationeel onderzoek. Het directe doel vormt een logisch en onmisbaar deel van de route naar het uiteindelijke doel, dat niet direct binnen de grenzen van dit project valt.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*)

> De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele en translationele project dat gericht is op het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken zijn de proefdieren, de onderzoekers en, op termijn, patiënten met deze ¹⁹F MRI nanodeeltjes methode na hartschade gescand kunnen worden in de MRI.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren enige stress en pijn ondervinden. Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: De onderzoekers zullen kennis verkrijgen. Ook zullen de carrièremogelijkheden van de onderzoekers verbeteren door publicaties en mogelijk patenten.

Waarden voor mensen zijn dat door het kunnen meten van de processen die een rol spelen bij de heling na een infarct, met name de ontstekingsreactie, van cruciaal belang is om gerichte therapieën te ontwikkelen die verslechtering van de hartfunctie en hartfalen kunnen voorkomen.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en of geef aan of deze effecten afgedekt

worden door specifieke wetgeving.

> Er is geen sprake van substantiële milieueffecten, voorzover de DEC dit kan overzien.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw antwoord toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).

> De IvD ziet erop toe dat alle personen die bij dit onderzoek betrokken zullen zijn, zowel de analisten en onderzoekers die de experimenten gaan uitvoeren, als de onderzoekers die het project hebben vormgegeven en opgeschreven, voldoen aan de wettelijke eisen van kennis en deskundigheid.

De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met het voorgestelde ziektemodel en met metingen mbv de MRI bij kleine proefdieren. Hierdoor heeft de groep de expertise in huis om alle voorgestelde proeven te kunnen uitvoeren en is er voldoende kunde in huis om aan de-3V beginselen te kunnen voldoen.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw antwoord toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

> De opzet van het project en van alle experimenten die worden ingezet voor elk van de subdoelen, is logisch en goed te begrijpen. Alle experimenten dragen bij aan de ontwikkeling van een nieuwe MRI methode om op een niet-invasieve manier ontstekingsprocessen in het hart na een hartinfarct te kwantificeren en meer inzicht te krijgen in hoe de ontstekingsrespons van invloed is op de hartfunctie op een later tijdstip. Na optimalisatie en validatie van de nieuwe MRI techniek voor het kwantificeren van ontsteking in het hart is een keuzemoment voor de vervollexperimenten. Alleen als de resultaten van Experiment 1 een goede correlatie laten zien tussen het gemeten ¹⁹F MRI signaal en histologisch bepaalde hoeveelheid ontstekingscellen, worden de experimenten 2-4 uitgevoerd.

De DEC verwacht dan ook dat de doelstellingen bereikt kunnen worden.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en de aanvrager voldoet aan de in de Wod voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
- ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
- ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- ☐ Zwerfdieren (10h)
- ☐ Hergebruik (1e, lid 2)

- ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

> Er is geen sprake van bijzondere dieren, omstandigheden of behandelingen.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan omdat het om wetenschappelijke redenen noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht toe waarom wel/niet.

> Er is voldaan aan bijlage III

11. Beoordeel of het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch is ingeschat en geclassificeerd, waarbij uitgegaan wordt van de kans op angst, pijn, stress en/of ziekte bij individuele dieren (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*).

> Ongeriefinschatting is in overleg met de IvD tot stand gekomen, met gebruikmaking van de Toelichting Codering Ongerief

12. Geef aan op welke wijze de integriteit van de dieren wordt aangetast (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*).

> De "heelheid" van het dier wordt niet aangetast zodanig dat sprake is van vermindering of ontneming van soortspecifieke eigenschappen. Echter de ziektemodellen induceren wel ernstige pijn (reumamodellen; opgezwollen gewrichten) of langdurig ongerief (verlamningsverschijnselen achterpoten in MS model) waardoor het natuurlijke gedrag van het dier belemmerd zal worden.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De humane eindpunten zijn helder gedefinieerd, en de inschatting van het percentage dieren (<15%) dat naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken is per experiment, op basis van ervaring van de onderzoeksgroep, realistisch ingeschat.

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn? Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De nanoparticles zijn eerst in vitro getest op celkweek. Hierbij is vastgesteld dat de nanodeeltjes worden opgenomen door ontstekingscellen en dat de functie en fenotype van de ontstekingscellen niet worden beïnvloed door de nanodeeltjes. In ons onderzoek willen we laten zien dat we de ontstekingsrespons na een myocardinfarct longitudinaal kunnen volgen en kwantificeren met niet-invasieve MRI technieken. Dit kan alleen gebruik makend van in vivo studies..

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> Voor de experimenten (behalve optimalisatie en biodistributie in exp 1) wordt gebruikt gemaakt van de formule van Sachs die het benodigd aantal dieren berekend aan de hand van het verwachte effect (δ) en de verwachte spreiding (σ) tussen de dieren in dezelfde groep. Wij hanteren een significantie level van 0.05 en een power van 0.8, wat een F-waarde geeft van 15.7 Hierdoor wordt het aantal dieren gegeven bij gebruik van de formule van Sachs gegeven door:

$$n = 15,7 * (\sigma/\delta)^2$$

In experiment 1 wordt het aantal dieren voor de optimalisatie en biodistributie geschat op 30. Een power analyse is hier niet mogelijk

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> Alle handelingen met dieren worden uitgevoerd door ervaren biotechnici om zo het ongerief van het dier per handeling zo laag mogelijk te houden. De handelingen beschreven in dit project staan beschreven in de literatuur en geven betrouwbare data. MRI is de gouden standaard-methode voor de evaluatie van hartfunctie in diermodellen. Op dit moment hanteren de onderzoekers maximaal 2.5 uur (vanaf narcose inductie) om alle benodigde informatie met voldoende kwaliteit te kunnen meten. Om uitdroging tijdens de MRI sessie te voorkomen wordt subcutaan vocht toegediend. Ook wordt oogzalf aangebracht om uitdroging van de ogen te voorkomen.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Onderbouw uw antwoord.

> n.v.t.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd? Geef ook aan welke maatregelen verder zijn getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

> Zowel mannelijk als vrouwelijke dieren zullen in gelijke mate worden ingezet.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van de richtlijn. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht dit toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De dieren worden in het kader van de proef gedood volgens een methode van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Doden is noodzakelijk omdat in het kader van het experiment de weefsels uit het dier moeten worden gehaald voor analyse en vergelijking met de MRI beelden.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

> n.v.t.

NTS

20. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

> Ja, deze is in overleg met de afdeling communicatie van de vergunninghouder bewerkt met het oog op de begrijpelijkheid.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).

Rechtvaardigt het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken het geringe en matige ongerief dat de muizen als proefdieren in het onderzoek zullen ervaren?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele project dat gericht is op het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken zijn op korte termijn de proefdieren en de onderzoekers.

Op lange termijn bestaan de belanghebbenden uit de groepen patiënten die lijden aan hartfalen ten gevolge van ontsteking in het hart na een hartinfarct.

De 553 proefdieren worden door dit onderzoek geschaad omdat het pijn en stress veroorzaakt. De dieren zullen licht (17,4%), en matig (82,6%) ongerief ondergaan.

De andere groep direct belanghebbenden, namelijk de onderzoekers, zullen door dit onderzoek hun fundamentele kennis en inzichten vergroten, welke gedeeld zullen worden met het wetenschappelijke veld. Aanvullende belangen van onderzoekers zouden kunnen zijn dat meewerken aan dit onderzoek hun carrièremogelijkheden vergroot door publicaties en dat zij nieuwe vindingen mogelijk kunnen patenteren.

Minder direct aanwezig maar wel duidelijk aanwezig zijn de waarden en belangen van patiënten. De inzichten die dit onderzoek zal opleveren, kunnen op termijn een belangrijke bijdrage leveren aan het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken bij de mens.

Hoewel een substantieel aantal muizen matig ongerief zullen ondergaan, acht de DEC dit gerechtvaardigd vanwege de verwachte gunstige gevolgen van dit onderzoek. De DEC

erkent dat het gekozen model het meest geschikte model is om deze MRI techniek in te ontwikkelen. Het maatschappelijk belang is dat het kunnen meten van de processen die een rol spelen bij de heling van een hartinfarct, met name de ontstekingsreactie dat een gevolg is van het infarct, is van cruciaal belang om gerichte therapieën te ontwikkelen die verslechtering van de hartfunctie en hartfalen kunnen voorkomen. In dit project wordt een nieuwe MRI techniek ontwikkeld met veelbelovende translatie naar de kliniek, waarmee ontstekingsprocessen in het hart gevolgd kunnen worden over de tijd. Hoewel patiënten met een hartinfarct een duidelijke doelgroep zijn voor het inzetten van deze technologie, zullen ook patiënten met myocarditis of een harttransplantatie (waar ontsteking een belangrijke rol speelt) hier enorm veel baat bij hebben.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Voor de DEC weegt voor het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken op tegen het lichte en matige ongerief van 553 muizen. De DEC vindt dat het ontwikkelen van de nieuwe techniek voor toepassing van de MRI bij het meten van ontstekingsprocessen in beschadigde harten maatschappelijke positieve gevolgen heeft omdat het een niet invasieve techniek is waarmee eerder dan met de huidige technieken, ontsteking kan worden gemeten en therapieën kunnen worden gegeven en het effect kan worden gevolgd om deze ontstekingsreactie tegen te gaan. Door deze ontstekingsreactie te remmen kan hartfalen worden voorkomen.

De DEC acht het aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. Het wetenschappelijke belang van de doelstelling is duidelijk geformuleerd en zal de directe opbrengst zijn van dit onderzoek.

Om dit doel te bereiken worden muizen als proefdieren gebruikt. Het ongerief dat de dieren ondergaan, wordt veroorzaakt door het nabootsen van de ziekte. De vraagstelling kan het beste beantwoord worden in een hartinfarctmodel. Dit weegt mee in de afweging tussen het licht en matige ongerief van de dieren ten opzichte van de belangen. De onderzoekers beperken het ongerief van de dieren door verschillende maatregelen (veel ervaring met de modellen, duidelijk geformuleerde humane eindpunten met voldoende controle momenten, niet meer gehanteerd dan uiterst noodzakelijk).

De DEC is bovendien van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven wetenschappelijke doelstellingen en dat de gekozen strategie en de experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen de kaders van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstelling te behalen. Tevens verwacht de DEC op basis van deze aanvraag dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren alsmede het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. De aanvrager heeft volgens de DEC overtuigend aangegeven dat gebruik van muizen voor het behalen van het directe doel noodzakelijk is en dat er geen geschikte proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden

☐ Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

☐ Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

☐ Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

☐ De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen

☐ De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...

☐ De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Dit DEC-advies is unaniem tot stand gekomen.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

Tijdens de beoordeling zijn geen knelpunten naar voren gekomen



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef 31
1105 AZ AMSTERDAM



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD1180020171664

Bijlagen

2

Datum 4 augustus 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 2 augustus 2017. Het gaat om uw project "Kwantificatie van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met 19F MRI". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD1180020171664. 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. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. 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 kan uw aanvraag buiten behandeling worden 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.centralecommissiedierproeven.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

Datum:

4 augustus 2017

Aanvraagnummer:

AVD1180020171664

Datum:
4 augustus 2017
Aanvraagnummer:
AVD1180020171664

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11800
Naam instelling of organisatie: Academisch Medisch Centrum
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 343362777
Straat en huisnummer: Meibergdreef 31
Postcode en plaats: 1105 AZ AMSTERDAM
IBAN: [REDACTED]
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: AMC Amsterdam

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Universitair Docent (UD)
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Datum:
4 augustus 2017
Aanvraagnummer:
AVD1180020171664

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Onderzoeker in opleiding (OIO)
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

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 2017
Geplande einddatum: 1 september 2022
Titel project: Kwantificatie van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met 19F MRI
Titel niet-technische samenvatting: Het meten van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met MRI
Naam DEC: DEC AMC
Postadres DEC: Meibergdreef [REDACTED] 1105 AZ Amsterdam
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1035,-
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: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Amsterdam
Datum: 2 augustus 2017

Datum:

4 augustus 2017

Aanvraagnummer:

AVD1180020171664



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

AMC Crediteurenadministratie
Postbus 400
1115 ZJ AMSTERDAM


**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD1180020171664
Bijlagen
2

Datum 4 augustus 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 4 augustus 2017
Vervaldatum: 3 september 2017
Factuurnummer: 
Ordernummer: Kostenplaatsnummer: 

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD1180020171664	€ 1035,-

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

Van: [REDACTED]
Verzonden: dinsdag 29 augustus 2017 11:09
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: RE: Verzoek aanvullende informatie projectvergunningsaanvraag
 AVD1180020171664

Geachte DEC AMC,
 Dank voor uw nieuwe advies wat wij 18 augustus 2017 hebben ontvangen. Hierin staat echter nog hetzelfde antwoord voor C12. Kunt u een nieuw advies sturen waarin dit antwoord is aangepast naar onderliggende aanvraag?

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

Met vriendelijke groeten,
 Namens de Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
 Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

.....
 T: 0900 – 28 000 28 (10 ct/min)

E: info@zbo-ccd.nl

Van: info@zbo-ccd.nl [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Verzonden: vrijdag 11 augustus 2017 11:32
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Verzoek aanvullende informatie projectvergunningsaanvraag AVD1180020171664

Geachte DEC AMC,

Op 02-08-2017 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Kwantificatie van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met 19F MRI' met aanvraagnummer AVD1180020171664.

Wilt u een nieuw advies sturen over deze aanvraag, waarin u het antwoord op C12 heeft aangepast naar onderliggende aanvraag?

Kunt u daarnaast aangeven of u de ethische afweging hebt gedaan op basis van 558 dieren? In uw advies staat dat het 553 dieren betreft, in de aanvraag staat 558 dieren genoemd.

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

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]
 Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
 Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

.....
 T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

A. Algemene gegevens over de procedure

Bij de punten 1 t/m 7 dienen altijd de gevraagde gegevens te worden ingevuld.

1. Aanvraagnummer
2. Titel van het project **Kwantificatie van ontsteking na een hartinfarct met ¹⁹F MRI**
3. Titel van de NTS **Het meten van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met ¹⁹F MRI**
4. Type aanvraag:
 - ☒ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
 - ☐ ~~wijziging van vergunning met nummer~~
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC **DEC-AMC**
 - telefoonnummer contactpersoon **[REDACTED]**
 - e-mailadres contactpersoon **[REDACTED]**
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☐ ontvangen door DEC
 - ☐ aanvraag compleet
 - ☐ in vergadering besproken **13-07-2017**
 - ☐ anderszins behandeld
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - ☐ aanpassing aanvraag
 - ☐ advies aan CCD
7. Afstemming IvD

De relevante onderdelen van de vergunningaanvraag (projectvoorstel en bijlagen) zijn in een traject voorafgaand aan de indiening ervan bij de DEC in overleg met de IvD tot stand gekomen.
8. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrek(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Gestelde vraag/vragen
 - Datum antwoord

- Verstrekt(e) antwoord(en)
- De antwoorden hebben ~~wel~~/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

10. 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
- Advies expert

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.

> Ja

Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.

2. De aanvraag betreft > een nieuwe aanvraag.

3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?

> Ja

4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.

> Nee

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).

1. Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling (Het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken) en kan getypeerd worden als een project met vier subdoelen waarvan na het slagen van experiment 1 de volgende drie onderling geen relatie of tijdsafhankelijkheid hebben. De vier subdoelen zijn: 1. Optimalisatie en histologische validatie van kwantitatieve MRI metingen van ontsteking in het hart met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes (Experiment 1), 2. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen van ontsteking in het hart een voorspellende waarde hebben voor de hartfunctie op een later tijdstip (Experiment 2), 3. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen met 2 type nanodeeltjes migrerende ontstekingscellen (vanuit secundaire immunologische organen) kunnen onderscheiden van lokale cellen (Experiment 3), 4. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen het effect van ontstekingsremmende middelen na een hartinfarct kunnen detecteren

De vier subdoelen dragen ieder bij aan het bereiken van de hoofddoelstelling. De vier subdoelen zijn volledig en duidelijk uitgewerkt en elk subdoel levert een bijdrage aan het hoofddoel. Dit maakt de aanvraag tot een navolgbaar geheel. Het project lijkt haalbaar, afgaande op het voorwerk en ervaring van deze onderzoekers, de omvang en de aangegeven tijdsspanne.

Het is helder welke handelingen en ongerief individuele dieren zullen ondergaan in de dierproeven die nodig zijn om de subdoelen te bereiken.

Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

2. Geef aan of er aspecten in deze aanvraag zijn die niet in overeenstemming zijn met wet- en regelgeving anders dan de Wod? Denk hierbij aan bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren. Indien van toepassing, leg uit om welke aspecten het gaat en waarom hier sprake van is.

> Niet, voor zover kan worden opgemaakt uit de aanvraag.

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.

> De aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling. Er wordt fundamenteel onderzoek en toegepast gedaan naar Het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een reële relatie is tussen beide doelstellingen (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

> Het directe doel van het project is het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken

Het betreft hier zowel fundamenteel onderzoek als translationeel onderzoek. Het directe doel vormt een logisch en onmisbaar deel van de route naar het uiteindelijke doel, dat niet direct binnen de grenzen van dit project valt.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*)

> De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele en translationele project dat gericht is op het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken zijn de proefdieren, de onderzoekers en, op termijn, patiënten met deze ¹⁹F MRI nanodeeltjes methode na hartschade gescand kunnen worden in de MRI.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren enige stress en pijn ondervinden. Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: De onderzoekers zullen kennis verkrijgen. Ook zullen de carrièremogelijkheden van de onderzoekers verbeteren door publicaties en mogelijk patenten.

Waarden voor mensen zijn dat door het kunnen meten van de processen die een rol spelen bij de heling na een infarct, met name de ontstekingsreactie, van cruciaal belang is om gerichte therapieën te ontwikkelen die verslechtering van de hartfunctie en hartfalen kunnen voorkomen.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en of geef aan of deze effecten afgedekt

worden door specifieke wetgeving.

> Er is geen sprake van substantiële milieueffecten, voorzover de DEC dit kan overzien.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw antwoord toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).

> De IvD ziet erop toe dat alle personen die bij dit onderzoek betrokken zullen zijn, zowel de analisten en onderzoekers die de experimenten gaan uitvoeren, als de onderzoekers die het project hebben vormgegeven en opgeschreven, voldoen aan de wettelijke eisen van kennis en deskundigheid.

De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met het voorgestelde ziektemodel en met metingen mbv de MRI bij kleine proefdieren. Hierdoor heeft de groep de expertise in huis om alle voorgestelde proeven te kunnen uitvoeren en is er voldoende kunde in huis om aan de-3V beginselen te kunnen voldoen.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw antwoord toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

> De opzet van het project en van alle experimenten die worden ingezet voor elk van de subdoelen, is logisch en goed te begrijpen. Alle experimenten dragen bij aan de ontwikkeling van een nieuwe MRI methode om op een niet-invasieve manier ontstekingsprocessen in het hart na een hartinfarct te kwantificeren en meer inzicht te krijgen in hoe de ontstekingsrespons van invloed is op de hartfunctie op een later tijdstip. Na optimalisatie en validatie van de nieuwe MRI techniek voor het kwantificeren van ontsteking in het hart is een keuzemoment voor de vervollexperimenten. Alleen als de resultaten van Experiment 1 een goede correlatie laten zien tussen het gemeten ¹⁹F MRI signaal en histologisch bepaalde hoeveelheid ontstekingscellen, worden de experimenten 2-4 uitgevoerd.

De DEC verwacht dan ook dat de doelstellingen bereikt kunnen worden.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en de aanvrager voldoet aan de in de Wod voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
- ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
- ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- ☐ Zwerfdieren (10h)
- ☐ Hergebruik (1e, lid 2)

- ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

> Er is geen sprake van bijzondere dieren, omstandigheden of behandelingen.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan omdat het om wetenschappelijke redenen noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht toe waarom wel/niet.

> Er is voldaan aan bijlage III

11. Beoordeel of het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch is ingeschat en geclassificeerd, waarbij uitgegaan wordt van de kans op angst, pijn, stress en/of ziekte bij individuele dieren (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*).

> Ongeriefinschatting is in overleg met de IvD tot stand gekomen, met gebruikmaking van de Toelichting Codering Ongerief

12. Geef aan op welke wijze de integriteit van de dieren wordt aangetast (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*).

> De "heelheid" van het dier wordt niet aangetast zodanig dat sprake is van vermindering of ontneming van soortspecifieke eigenschappen. Echter de ziektemodellen induceren wel ernstige pijn (reumamodellen; opgezwollen gewrichten) of langdurig ongerief (verlamningsverschijnselen achterpoten in MS model) waardoor het natuurlijke gedrag van het dier belemmerd zal worden.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De humane eindpunten zijn helder gedefinieerd, en de inschatting van het percentage dieren (<15%) dat naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken is per experiment, op basis van ervaring van de onderzoeksgroep, realistisch ingeschat.

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn? Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De nanoparticles zijn eerst in vitro getest op celkweek. Hierbij is vastgesteld dat de nanodeeltjes worden opgenomen door ontstekingscellen en dat de functie en fenotype van de ontstekingscellen niet worden beïnvloed door de nanodeeltjes. In ons onderzoek willen we laten zien dat we de ontstekingsrespons na een myocardinfarct longitudinaal kunnen volgen en kwantificeren met niet-invasieve MRI technieken. Dit kan alleen gebruik makend van in vivo studies..

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> Voor de experimenten (behalve optimalisatie en biodistributie in exp 1) wordt gebruikt gemaakt van de formule van Sachs die het benodigd aantal dieren berekend aan de hand van het verwachte effect (δ) en de verwachte spreiding (σ) tussen de dieren in dezelfde groep. Wij hanteren een significantie level van 0.05 en een power van 0.8, wat een F-waarde geeft van 15.7 Hierdoor wordt het aantal dieren gegeven bij gebruik van de formule van Sachs gegeven door:

$$n = 15,7 * (\sigma/\delta)^2$$

In experiment 1 wordt het aantal dieren voor de optimalisatie en biodistributie geschat op 30. Een power analyse is hier niet mogelijk

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> Alle handelingen met dieren worden uitgevoerd door ervaren biotechnici om zo het ongerief van het dier per handeling zo laag mogelijk te houden. De handelingen beschreven in dit project staan beschreven in de literatuur en geven betrouwbare data. MRI is de gouden standaard-methode voor de evaluatie van hartfunctie in diermodellen. Op dit moment hanteren de onderzoekers maximaal 2.5 uur (vanaf narcose inductie) om alle benodigde informatie met voldoende kwaliteit te kunnen meten. Om uitdroging tijdens de MRI sessie te voorkomen wordt subcutaan vocht toegediend. Ook wordt oogzalf aangebracht om uitdroging van de ogen te voorkomen.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Onderbouw uw antwoord.

> n.v.t.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd? Geef ook aan welke maatregelen verder zijn getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

> Zowel mannelijk als vrouwelijke dieren zullen in gelijke mate worden ingezet.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van de richtlijn. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht dit toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De dieren worden in het kader van de proef gedood volgens een methode van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Doden is noodzakelijk omdat in het kader van het experiment de weefsels uit het dier moeten worden gehaald voor analyse en vergelijking met de MRI beelden.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

> n.v.t.

NTS

20. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

> Ja, deze is in overleg met de afdeling communicatie van de vergunninghouder bewerkt met het oog op de begrijpelijkheid.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).

Rechtvaardigt het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken het geringe en matige ongerief dat de muizen als proefdieren in het onderzoek zullen ervaren?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele project dat gericht is op het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken zijn op korte termijn de proefdieren en de onderzoekers.

Op lange termijn bestaan de belanghebbenden uit de groepen patiënten die lijden aan hartfalen ten gevolge van ontsteking in het hart na een hartinfarct.

De 558 proefdieren worden door dit onderzoek geschaad omdat het pijn en stress veroorzaakt. De dieren zullen licht (17,4%), en matig (82,6%) ongerief ondergaan.

De andere groep direct belanghebbenden, namelijk de onderzoekers, zullen door dit onderzoek hun fundamentele kennis en inzichten vergroten, welke gedeeld zullen worden met het wetenschappelijke veld. Aanvullende belangen van onderzoekers zouden kunnen zijn dat meewerken aan dit onderzoek hun carrièremogelijkheden vergroot door publicaties en dat zij nieuwe vindingen mogelijk kunnen patenteren.

Minder direct aanwezig maar wel duidelijk aanwezig zijn de waarden en belangen van patiënten. De inzichten die dit onderzoek zal opleveren, kunnen op termijn een belangrijke bijdrage leveren aan het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken bij de mens.

Hoewel een substantieel aantal muizen matig ongerief zullen ondergaan, acht de DEC dit gerechtvaardigd vanwege de verwachte gunstige gevolgen van dit onderzoek. De DEC

erkent dat het gekozen model het meest geschikte model is om deze MRI techniek in te ontwikkelen. Het maatschappelijk belang is dat het kunnen meten van de processen die een rol spelen bij de heling van een hartinfarct, met name de ontstekingsreactie dat een gevolg is van het infarct, is van cruciaal belang om gerichte therapieën te ontwikkelen die verslechtering van de hartfunctie en hartfalen kunnen voorkomen. In dit project wordt een nieuwe MRI techniek ontwikkeld met veelbelovende translatie naar de kliniek, waarmee ontstekingsprocessen in het hart gevolgd kunnen worden over de tijd. Hoewel patiënten met een hartinfarct een duidelijke doelgroep zijn voor het inzetten van deze technologie, zullen ook patiënten met myocarditis of een harttransplantatie (waar ontsteking een belangrijke rol speelt) hier enorm veel baat bij hebben.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Voor de DEC weegt voor het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken op tegen het lichte en matige ongerief van 553 muizen. De DEC vindt dat het ontwikkelen van de nieuwe techniek voor toepassing van de MRI bij het meten van ontstekingsprocessen in beschadigde harten maatschappelijke positieve gevolgen heeft omdat het een niet invasieve techniek is waarmee eerder dan met de huidige technieken, ontsteking kan worden gemeten en therapieën kunnen worden gegeven en het effect kan worden gevolgd om deze ontstekingsreactie tegen te gaan. Door deze ontstekingsreactie te remmen kan hartfalen worden voorkomen.

De DEC acht het aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. Het wetenschappelijke belang van de doelstelling is duidelijk geformuleerd en zal de directe opbrengst zijn van dit onderzoek.

Om dit doel te bereiken worden muizen als proefdieren gebruikt. Het ongerief dat de dieren ondergaan, wordt veroorzaakt door het nabootsen van de ziekte. De vraagstelling kan het beste beantwoord worden in een hartinfarctmodel. Dit weegt mee in de afweging tussen het licht en matige ongerief van de dieren ten opzichte van de belangen. De onderzoekers beperken het ongerief van de dieren door verschillende maatregelen (veel ervaring met de modellen, duidelijk geformuleerde humane eindpunten met voldoende controle momenten, niet meer gehanteerd dan uiterst noodzakelijk).

De DEC is bovendien van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven wetenschappelijke doelstellingen en dat de gekozen strategie en de experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen de kaders van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstelling te behalen. Tevens verwacht de DEC op basis van deze aanvraag dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren alsmede het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. De aanvrager heeft volgens de DEC overtuigend aangegeven dat gebruik van muizen voor het behalen van het directe doel noodzakelijk is en dat er geen geschikte proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

X De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden

☐ Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

☐ Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

☐ Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

☐ De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen

☐ De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...

☐ De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Dit DEC-advies is unaniem tot stand gekomen.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

Tijdens de beoordeling zijn geen knelpunten naar voren gekomen

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

A. Algemene gegevens over de procedure

Bij de punten 1 t/m 7 dienen altijd de gevraagde gegevens te worden ingevuld.

1. Aanvraagnummer
2. Titel van het project **Kwantificatie van ontsteking na een hartinfarct met ¹⁹F MRI**
3. Titel van de NTS **Het meten van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met ¹⁹F MRI**
4. Type aanvraag:
 - ☒ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
 - ☐ ~~wijziging van vergunning met nummer~~
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC **DEC-AMC**
 - telefoonnummer contactpersoon **[REDACTED]**
 - e-mailadres contactpersoon **[REDACTED]**
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☐ ontvangen door DEC
 - ☐ aanvraag compleet
 - ☐ in vergadering besproken **13-07-2017**
 - ☐ anderszins behandeld
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - ☐ aanpassing aanvraag
 - ☐ advies aan CCD
7. Afstemming IvD

De relevante onderdelen van de vergunningaanvraag (projectvoorstel en bijlagen) zijn in een traject voorafgaand aan de indiening ervan bij de DEC in overleg met de IvD tot stand gekomen.
8. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrek(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Gestelde vraag/vragen
 - Datum antwoord

- Verstrekt(e) antwoord(en)
- De antwoorden hebben ~~wel~~/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

10. 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
- Advies expert

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.

> Ja

Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.

2. De aanvraag betreft > een nieuwe aanvraag.

3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?

> Ja

4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.

> Nee

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).

1. Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling (Het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken) en kan getypeerd worden als een project met vier subdoelen waarvan na het slagen van experiment 1 de volgende drie onderling geen relatie of tijdsafhanke-lijkheid hebben. De vier subdoelen zijn: 1. Optimalisatie en histologische validatie van kwantitatieve MRI metingen van ontsteking in het hart met behulp van ¹⁹F nanodeel-tjes (Experiment 1), 2. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen van ontsteking in het hart een voorspellende waarde hebben voor de hartfunctie op een later tijdstip (Experi-ment 2), 3. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen met 2 type nanodeeltjes migrerende ontstekingscellen (vanuit secundaire immunologische organen) kunnen onderscheiden van lokale cellen (Experiment 3), 4. Onderzoeken of ¹⁹F MRI metingen het effect van ontstekingsremmende middelen na een hartinfarct kunnen detecteren

De vier subdoelen dragen ieder bij aan het bereiken van de hoofddoelstelling. De vier subdoelen zijn volledig en duidelijk uitgewerkt en elk subdoel levert een bijdrage aan het hoofddoel. Dit maakt de aanvraag tot een navolgbaar geheel. Het project lijkt haalbaar, afgaande op het voorwerk en ervaring van deze onderzoekers, de omvang en de aangegeven tijdsspanne.

Het is helder welke handelingen en ongerief individuele dieren zullen ondergaan in de dierproeven die nodig zijn om de subdoelen te bereiken.

Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

2. Geef aan of er aspecten in deze aanvraag zijn die niet in overeenstemming zijn met wet- en regelgeving anders dan de Wod? Denk hierbij aan bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren. Indien van toepassing, leg uit om welke aspecten het gaat en waarom hier sprake van is.

> Niet, voor zover kan worden opgemaakt uit de aanvraag.

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.

> De aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling. Er wordt fundamenteel onderzoek en toegepast gedaan naar Het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een reële relatie is tussen beide doelstellingen (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

> Het directe doel van het project is het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken

Het betreft hier zowel fundamenteel onderzoek als translationeel onderzoek. Het directe doel vormt een logisch en onmisbaar deel van de route naar het uiteindelijke doel, dat niet direct binnen de grenzen van dit project valt.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*)

> De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele en translationele project dat gericht is op het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken zijn de proefdieren, de onderzoekers en, op termijn, patiënten met deze ¹⁹F MRI nanodeeltjes methode na hartschade gescand kunnen worden in de MRI.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren enige stress en pijn ondervinden. Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: De onderzoekers zullen kennis verkrijgen. Ook zullen de carrièremogelijkheden van de onderzoekers verbeteren door publicaties en mogelijk patenten.

Waarden voor mensen zijn dat door het kunnen meten van de processen die een rol spelen bij de heling na een infarct, met name de ontstekingsreactie, van cruciaal belang is om gerichte therapieën te ontwikkelen die verslechtering van de hartfunctie en hartfalen kunnen voorkomen.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en of geef aan of deze effecten afgedekt

worden door specifieke wetgeving.

> Er is geen sprake van substantiële milieueffecten, voorzover de DEC dit kan overzien.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw antwoord toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).

> De IvD ziet erop toe dat alle personen die bij dit onderzoek betrokken zullen zijn, zowel de analisten en onderzoekers die de experimenten gaan uitvoeren, als de onderzoekers die het project hebben vormgegeven en opgeschreven, voldoen aan de wettelijke eisen van kennis en deskundigheid.

De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met het voorgestelde ziektemodel en met metingen mbv de MRI bij kleine proefdieren. Hierdoor heeft de groep de expertise in huis om alle voorgestelde proeven te kunnen uitvoeren en is er voldoende kunde in huis om aan de-3V beginselen te kunnen voldoen.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw antwoord toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

> De opzet van het project en van alle experimenten die worden ingezet voor elk van de subdoelen, is logisch en goed te begrijpen. Alle experimenten dragen bij aan de ontwikkeling van een nieuwe MRI methode om op een niet-invasieve manier ontstekingsprocessen in het hart na een hartinfarct te kwantificeren en meer inzicht te krijgen in hoe de ontstekingsrespons van invloed is op de hartfunctie op een later tijdstip. Na optimalisatie en validatie van de nieuwe MRI techniek voor het kwantificeren van ontsteking in het hart is een keuzemoment voor de vervollexperimenten. Alleen als de resultaten van Experiment 1 een goede correlatie laten zien tussen het gemeten ¹⁹F MRI signaal en histologisch bepaalde hoeveelheid ontstekingscellen, worden de experimenten 2-4 uitgevoerd.

De DEC verwacht dan ook dat de doelstellingen bereikt kunnen worden.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en de aanvrager voldoet aan de in de Wod voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
- ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
- ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- ☐ Zwerfdieren (10h)
- ☐ Hergebruik (1e, lid 2)

- ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

> Er is geen sprake van bijzondere dieren, omstandigheden of behandelingen.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan omdat het om wetenschappelijke redenen noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht toe waarom wel/niet.

> Er is voldaan aan bijlage III

11. Beoordeel of het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch is ingeschat en geclassificeerd, waarbij uitgegaan wordt van de kans op angst, pijn, stress en/of ziekte bij individuele dieren (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*).

> Ongeriefinschatting is in overleg met de IvD tot stand gekomen, met gebruikmaking van de Toelichting Codering Ongerief

12. Geef aan op welke wijze de integriteit van de dieren wordt aangetast (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*).

> De "heelheid" van het dier wordt niet aangetast zodanig dat sprake is van vermindering of ontneming van soortspecifieke eigenschappen. Echter het ziektemodel (myocardinfarct tgv ischemie-reperfusie) induceert wel ongerief waardoor het natuurlijke gedrag van het dier kortstondig belemmerd kan worden. Zodra er afwijkingen te zien zijn aan het gedrag (=HEP) worden de dieren gedood.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De humane eindpunten zijn helder gedefinieerd, en de inschatting van het percentage dieren (<15%) dat naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken is per experiment, op basis van ervaring van de onderzoeksgroep, realistisch ingeschat.

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn? Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De nanoparticles zijn eerst in vitro getest op celkweek. Hierbij is vastgesteld dat de nanodeeltjes worden opgenomen door ontstekingscellen en dat de functie en fenotype van de ontstekingscellen niet worden beïnvloed door de nanodeeltjes. In ons onderzoek willen we laten zien dat we de ontstekingsrespons na een myocardinfarct longitudinaal kunnen volgen en kwantificeren met niet-invasieve MRI technieken. Dit kan alleen gebruik makend van in vivo studies..

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> Voor de experimenten (behalve optimalisatie en biodistributie in exp 1) wordt gebruikt gemaakt van de formule van Sachs die het benodigd aantal dieren berekend aan de hand van het verwachte effect (δ) en de verwachte spreiding (σ) tussen de dieren in dezelfde groep. Wij hanteren een significantie level van 0.05 en een power van 0.8, wat een F-waarde geeft van 15.7 Hierdoor wordt het aantal dieren gegeven bij gebruik van de formule van Sachs gegeven door:

$$n = 15,7 * (\sigma/\delta)^2$$

In experiment 1 wordt het aantal dieren voor de optimalisatie en biodistributie geschat op 30. Een power analyse is hier niet mogelijk

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> Alle handelingen met dieren worden uitgevoerd door ervaren biotechnici om zo het ongerief van het dier per handeling zo laag mogelijk te houden. De handelingen beschreven in dit project staan beschreven in de literatuur en geven betrouwbare data. MRI is de gouden standaard-methode voor de evaluatie van hartfunctie in diermodellen. Op dit moment hanteren de onderzoekers maximaal 2.5 uur (vanaf narcose inductie) om alle benodigde informatie met voldoende kwaliteit te kunnen meten. Om uitdroging tijdens de MRI sessie te voorkomen wordt subcutaan vocht toegediend. Ook wordt oogzalf aangebracht om uitdroging van de ogen te voorkomen.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Onderbouw uw antwoord.

> n.v.t.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd? Geef ook aan welke maatregelen verder zijn getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

> Zowel mannelijk als vrouwelijke dieren zullen in gelijke mate worden ingezet.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van de richtlijn. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht dit toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De dieren worden in het kader van de proef gedood volgens een methode van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Doden is noodzakelijk omdat in het kader van het experiment de weefsels uit het dier moeten worden gehaald voor analyse en vergelijking met de MRI beelden.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

> n.v.t.

NTS

20. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

> Ja, deze is in overleg met de afdeling communicatie van de vergunninghouder bewerkt met het oog op de begrijpelijkheid.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).

Rechtvaardigt het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken het geringe en matige ongerief dat de muizen als proefdieren in het onderzoek zullen ervaren?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele project dat gericht is op het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken zijn op korte termijn de proefdieren en de onderzoekers.

Op lange termijn bestaan de belanghebbenden uit de groepen patiënten die lijden aan hartfalen ten gevolge van ontsteking in het hart na een hartinfarct.

De 558 proefdieren worden door dit onderzoek geschaad omdat het pijn en stress veroorzaakt. De dieren zullen licht (17,4%), en matig (82,6%) ongerief ondergaan.

De andere groep direct belanghebbenden, namelijk de onderzoekers, zullen door dit onderzoek hun fundamentele kennis en inzichten vergroten, welke gedeeld zullen worden met het wetenschappelijke veld. Aanvullende belangen van onderzoekers zouden kunnen zijn dat meewerken aan dit onderzoek hun carrièremogelijkheden vergroot door publicaties en dat zij nieuwe vindingen mogelijk kunnen patenteren.

Minder direct aanwezig maar wel duidelijk aanwezig zijn de waarden en belangen van patiënten. De inzichten die dit onderzoek zal opleveren, kunnen op termijn een belangrijke bijdrage leveren aan het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ^{19}F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken bij de mens.

Hoewel een substantieel aantal muizen matig ongerief zullen ondergaan, acht de DEC dit gerechtvaardigd vanwege de verwachte gunstige gevolgen van dit onderzoek. De DEC

erkent dat het gekozen model het meest geschikte model is om deze MRI techniek in te ontwikkelen. Het maatschappelijk belang is dat het kunnen meten van de processen die een rol spelen bij de heling van een hartinfarct, met name de ontstekingsreactie dat een gevolg is van het infarct, is van cruciaal belang om gerichte therapieën te ontwikkelen die verslechtering van de hartfunctie en hartfalen kunnen voorkomen. In dit project wordt een nieuwe MRI techniek ontwikkeld met veelbelovende translatie naar de kliniek, waarmee ontstekingsprocessen in het hart gevolgd kunnen worden over de tijd. Hoewel patiënten met een hartinfarct een duidelijke doelgroep zijn voor het inzetten van deze technologie, zullen ook patiënten met myocarditis of een harttransplantatie (waar ontsteking een belangrijke rol speelt) hier enorm veel baat bij hebben.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Voor de DEC weegt voor het ontwikkelen en evalueren van een nieuwe MRI techniek om met behulp van ¹⁹F nanodeeltjes de ontstekingsrespons na een hartinfarct te meten en de voorspellende waarde hiervan op de hartfunctie te onderzoeken op tegen het lichte en matige ongerief van 553 muizen. De DEC vindt dat het ontwikkelen van de nieuwe techniek voor toepassing van de MRI bij het meten van ontstekingsprocessen in beschadigde harten maatschappelijke positieve gevolgen heeft omdat het een niet invasieve techniek is waarmee eerder dan met de huidige technieken, ontsteking kan worden gemeten en therapieën kunnen worden gegeven en het effect kan worden gevolgd om deze ontstekingsreactie tegen te gaan. Door deze ontstekingsreactie te remmen kan hartfalen worden voorkomen.

De DEC acht het aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. Het wetenschappelijke belang van de doelstelling is duidelijk geformuleerd en zal de directe opbrengst zijn van dit onderzoek.

Om dit doel te bereiken worden muizen als proefdieren gebruikt. Het ongerief dat de dieren ondergaan, wordt veroorzaakt door het nabootsen van de ziekte. De vraagstelling kan het beste beantwoord worden in een hartinfarctmodel. Dit weegt mee in de afweging tussen het licht en matige ongerief van de dieren ten opzichte van de belangen. De onderzoekers beperken het ongerief van de dieren door verschillende maatregelen (veel ervaring met de modellen, duidelijk geformuleerde humane eindpunten met voldoende controle momenten, niet meer gehanteerd dan uiterst noodzakelijk).

De DEC is bovendien van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven wetenschappelijke doelstellingen en dat de gekozen strategie en de experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen de kaders van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstelling te behalen. Tevens verwacht de DEC op basis van deze aanvraag dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren alsmede het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. De aanvrager heeft volgens de DEC overtuigend aangegeven dat gebruik van muizen voor het behalen van het directe doel noodzakelijk is en dat er geen geschikte proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden

☐ Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

☐ Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

☐ Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

☐ De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen

☐ De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...

☐ De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

[Dit DEC-advies is unaniem tot stand gekomen.](#)

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

[Tijdens de beoordeling zijn geen knelpunten naar voren gekomen](#)



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.centralecommissiedierproeven.nl.
Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	11800	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Academisch Medisch Centrum Amsterdam	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		1	HFrEF en HfpEF inductie muizen

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.

Het directe doel van deze experimenten is om inzicht te verkrijgen in de dynamiek en precieze tijdslijn van verschillende processen die ontstaan in hartfalen met (HFrEF) en zonder verlaagde ejectiefractie (HFpEF). De primaire uitkomstparameters is het metabolisme en mitochondriële functie van het hart.

Een deel van dit onderzoek willen we uitvoeren met genetisch gemodificeerde muizen met het metabool syndroom en diabetes type 2 (db/db muis). Het is bekend dat deze muizen hyperglycemia, hyperinsulinemia en obesitas ontwikkelen, en ontstaat een HFpEF fenotype. Deze groep wordt vergeleken met een controlegroep (db^{+/?}) met een C57BL/6J achtergrond. De primaire uitkomstparameters zijn: contractiele en mitochondriële functie van het hart.

Om een HFrEF fenotype te creëren, zullen twee type operaties gebruikt worden: het myocard infarct (MI) en het trans-aortische constrictie (TAC) model. Er zal een pilot gedaan worden om uit te zoeken welk model het meest geschikt is voor onze onderzoeksvraag. Op voorhand zou onze eerste keuze het myocard infarct (MI) model zijn, omdat hiermee meer ervaring is binnen het AMC. Dit is wereldwijd een veelgebruikt model om hartfalen te induceren.

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.

De muizen zullen 2-3 maanden oud zijn op het moment dat de dierproef aanvangt. Afnames en toedieningsvolumina worden beschreven in het artikel van Diehl et al. (2001; J Appl Toxicol. 21(1):15-23).

Dag 1

Onder algehele anaesthesie en analgesie worden gedurende de operatie de dieren beademd zodat voorkomen kan worden dat de longen inklappen wanneer de thorax beschadigd raakt.

MI operatie:

De vierde linker tussenrib ruimte wordt geopend en met een hechtdraad wordt de linker coronair arterie afgekneld. De borstkas (spierlaag en huid) wordt vervolgens gesloten met hechtdraad. De vernieuwde en verbeterde techniek beschreven in Gao et al (Circ Res. 2010; 107(12): 1445–1453) zal worden toegepast.

TAC operatie:

De linker tussenrib ruimte wordt geopend en er wordt een gedeeltelijke vernauwing aangebracht ter hoogte van de aortaboog, met behulp van een injectienaaldje tussen de ligatuurknoop en de aorta. Bij verwijdering van de naald blijft vervolgens een lumen achter dat exact even groot is als de naald. De borstkas (spierlaag en huid) wordt vervolgens gesloten met hechtdraad.

Een deel van de controle groep zal eenzelfde type operatie ondergaan, maar zonder daadwerkelijke afknelling of vernauwing.

Dag 2 en 3

Op de eerstvolgende twee dagen na de operatie wordt analgetica toegediend.

Dag 3-7

Binnen een week na de operatie zal eenmalig een MRI uitgevoerd worden om de mate van infarctgrootte (MI) of constrictie (TAC) te bepalen. Dit om zekerheid te krijgen over het succes van de operatie en om aan te kunnen tonen dat de mate van constrictie vergelijkbaar is in de verschillende groepen. Voorafgaand aan de MRI metingen worden de muizen geanesthetiseerd. Tijdens de MRI scans wordt onderhoudsanesthesie toegepast. Verder wordt de lichaamstemperatuur wordt op 37°C gehouden en ademhaling en ECG gemonitord. Een klinisch MRI contrastmiddel kan worden toegediend via de staartvene ten behoeve van contrast-versterkte MRI metingen. De totale MRI tijd zal maximaal 2 uur bedragen. Uit voorgaande experimenten (die onder vergelijkbare condities in Eindhoven uitgevoerd zijn door AMC collega's) is gebleken dat de hartfunctie gedurende deze 2u niet achteruit gaat en dieren tot 3u in de MRI scanner gehouden kunnen worden. De MRI-apparatuur in het AMC zal medio 2017 operationeel zijn. Voor dit project zal een pilot uitgevoerd worden om dit protocol te optimaliseren en de tijdsduur zo kort mogelijk te houden.

Week 4-12

In de periode van 4-12 weken na de operatie verwachten wij dat de compensatoire hypertrofie duidelijk aanwezig is en hebben ook metabole adaptaties plaatsgevonden. Alle toegediende stoffen zullen daarom uiterlijk in week 4 voor het eerst toegediend worden. In deze periode zullen wij voor een periode van 2 weken het antibioticum doxycycline (deelstudie 2) of EMPA (deelstudie 4) aan het drinkwater toedienen. Eventueel worden in deelstudie 5 de compounds via een IP injectie aan de dieren toegediend. Direct voorafgaand hieraan zal de tweede MRI (zoals hierboven beschreven) plaatsvinden, en 2 weken later een derde, dit maal onder terminale anesthesie. Tijdens de 2 laatste verdovingen willen we naast MRI ook een ECG afnemen om het hartritme van het dier in kaart te brengen.

Na de laatste MRI zullen de dieren door middel van cervicale dyslocatie geëuthanaseerd worden, onder anesthesie. Direct daarna zal sectie plaatsvinden van hart en andere organen, voor verder functioneel, biochemisch en moleculair onderzoek.

Alle dieren zullen op gelijke tijdstippen, maar uiterlijk na 12 weken opgeofferd worden.

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

Het aantal benodigde muizen is gebaseerd op powerberekeningen (waar mogelijk) uit vorige experimenten.

Poweranalyses en overwegingen output variabelen

In alle studies zal het metabolisme en mitochondriële functie in kaart gebracht worden door de volgende metingen, met de benodigde dieren per groep voor een goede statistische vergelijking.

- A. Hartfunctie, met behulp van state-of-the-art MRI voor kleine proefdieren (N=15)
- B. geïsoleerde hartperfusie experimenten voor isotopen studies, ex vivo (N=30)
- C. Mitochondriële respiratie, ex vivo (N=10)

- D. Hartcel functie in geïsoleerde ventriculaire hartcellen, ex vivo (N=10)
- E. Biochemische en moleculaire studies, ex vivo (N=10).

Onze primaire parameter is de mitochondriële respiratie. Om een verwacht verschil van 30% significant aan te tonen met een power van 80% en $\alpha=0.05$, hebben we rond de 10 harten nodig per individuele meting per groep. De precieze groepsgrootte per deelexperiment volgt uit de SD uit de initiële experimenten en zal afgestemd worden met de IvD in het werkprotocol.

Sommige experimenten kunnen uitgevoerd worden op hetzelfde dier. Als voorbeeld: de functionele metingen in het intacte hart (MRI, A) kunnen uitgevoerd worden naast alle andere experimenten. Ook kunnen de mitochondriële respiratie metingen (C) gecombineerd worden met de biochemische en moleculaire studies (E). Daarnaast kunnen de studies met isotopen (B) en de hartcel functie (D) niet met andere ex-vivo experimenten samengaan. We streven ernaar zo veel mogelijk metingen te kunnen combineren. Als blijkt dat ook de hartcel functie metingen (D) te combineren te zijn, zal het aantal dieren per groep verminderen. We verwachten dat we daardoor 50 (B+C+D) dieren per groep nodig hebben om alle metingen uit te kunnen voeren.

De MRI unit in het AMC is per medio 2017 beschikbaar. Om onze proefopzet te optimaliseren met deze nieuwe apparatuur, willen we graag 20 extra muizen (10 controle en 10 db/db) aanvragen. Hiervoor willen we o.a. de test-hertest betrouwbaarheid testen, waardoor dieren maximaal 2 keer een MRI kunnen ondergaan.

De statistische methodes die toegepast worden op de resultaten zijn ANOVA, t-toetsen en indien noodzakelijk lineaire regressie analyse.
Onder kopje B staan de verdere overwegingen per diergroep en compound vermeld.

B. De dieren

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

Het project bestaat uit het onderzoeken van twee soorten hartfalen die veel voorkomen: hartfalen met normale (HFpEF) of verlaagde ejectie fractie (HFrEF). Hiertoe willen we muizen gebruiken, die commercieel verkrijgbaar zijn bij erkende fokkers. Voor alle studies zullen zowel vrouwtjes als mannetjes muizen gebruikt worden.

Overwegingen diergroepen

HFpEF fenotype

Dit onderzoek willen we uitvoeren met genetisch gemodificeerde muizen met het metabool syndroom en diabetes type 2 (db/db muis). Dit type muis heeft een niet-functionele leptine receptor, $Lepr^{db}$, waardoor het dier leptine-resistent is. Deze groep wordt vergeleken met een controlegroep ($db^{+/?}$) met een C57BL/6J achtergrond.

HFrEF fenotype

De dieren voor deze studies zijn genetisch hetzelfde als in de HFpEF groep ($db^{+/?}$), om statistische vergelijkingen tussen HFrEF en HFpEF mogelijk te maken. Om een HFrEF fenotype te creëren, zullen twee type operaties gebruikt worden: het myocard infarct (MI) en het trans-aortische constrictie (TAC) model. Voor deelstudie 3 (de chirurgische ingreep in de db/db muizen), die na het go/no-go-moment ligt wordt dezelfde operatie gedaan in db/db muizen.

Voor alle deelstudies maken we gebruik van de volgende 4 diergroepen:

1. Gezonde controle dieren (maximaal 370 dieren)
2. db/db muizen (HFpEF fenotype; maximaal 370 dieren)
3. Gezonde controle dieren met MI/TAC (HFrEF; maximaal 360 dieren)
4. db/db muizen met MI/TAC (HFpEF + HFrEF; maximaal 350 dieren)

In tabel 1 staan de overzichten van benodigde dieren per groep en deelstudie uitgeschreven.

Ad 3+4: Bij de conventionele MI techniek is de verwachting dat ongeveer 30% van de dieren overlijdt als gevolg van de initiële MI operatie. Ondersteunend personeel (met voorkeur in vaste dienst) zal de MI

operatie uitvoeren. De operatie wordt geoptimaliseerd door de techniek beschreven in Gao et al (Circ Res. 2010; 107(12): 1445–1453) toe te passen. Hierdoor wordt de proceduretijd drastisch verminderd en is de verwachte initiële uitval ongeveer 10%. Daardoor zal het aantal benodigde dieren in deze groepen 10% hoger liggen. Vanwege de voorspelde winst in vermindering, zouden we graag 10 dieren willen aanvragen voor de aanleren en optimalisatie van deze nieuwe techniek.

Dieren die de operatie overleven zullen hartfalen met verlaagde ejectie fractie ontwikkelen in de 4-8 weken na de operatie. Collega's in het AMC (o.a. Profs Pinto, Strijkers & Drs Coolen, Coronel, Creemers, Zuurbier) en bevriende (buitenlandse) collega's maken gebruik van (één van) beide modellen om hartziekten te onderzoeken. Zij zijn betrokken bij deze aanvraag.

Overwegingen compounds

We maken gebruik van de volgende 5 compounds:

1. Antibiotica doxycycline (maximaal 200 dieren)
2. Controle antibiotica: amoxicilline (maximaal 200 dieren)
3. EMPA (maximaal 200 dieren)
4. Compound 1 (maximaal 200 dieren)
5. Compound 2 (maximaal 200 dieren)

Voor de compounds zijn een controle groep noodzakelijk voor statistische analyse.

Ad 2: Omdat antibiotica ook een effect heeft op de darmflora, en via deze weg een negatief effect kan hebben op de hartfunctie, is een extra groep dieren noodzakelijk die behandeld zijn met een ander antibiotica, namelijk amoxicilline. In deze groep kunnen we onderzoeken wat de effecten zijn van antibiotica die de darmflora aantasten, maar geen negatief effect hebben op de mitochondriële functie. Hierdoor is een extra controlegroep opgenomen voor deelstudie 2.

We verwachten maximaal 1450 dieren te gebruiken voor deze studie. Hierbij wordt rekening gehouden met:

1. Dat alle deelstudies worden uitgevoerd;
2. Uitval van dieren door de operatie niet verlaagd wordt, en
3. Alle experimentele metingen uitgevoerd gaan worden.

Dit aantal zal in de praktijk minder zijn als niet alle deelstudies en metingen uitgevoerd gaan worden, en de uitval van dieren minder is dan verwacht.

In tabel 1 staan de overzichten van benodigde dieren per groep en deelstudie uitgeschreven.

Tabel 1. Overzicht dieraantallen van de verschillende deelstudies

	Healthy	HFpEF	HFREF	HFREF+ HFpEF	TOTAAL
Optimalisatie	20	20	10	0	50
Vehicle (deelstudie 1-5)	100	100	100	100	400
Vehicle Amoxicilline (deelstudie 2+3)	50	50	50	50	200
Doxycycline (deelstudie 2+3)	50	50	50	50	200
EMPA (deelstudie 4)	50	50	50	50	200
Compound 1 (deelstudie 5)	50	50	50	50	200
Compound 2 (deelstudie 5)	50	50	50	50	200
TOTAAL	370	370	360	350	1450

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 We hebben recentelijk onderzocht of antibiotica en EMPA de hartfunctie kan verslechteren en verbeteren op enkel cel-niveau. Dit was het geval en leidde tot deze aanvraag. Voor het vaststellen of deze cellulaire aanpassingen daadwerkelijk ook de hele hartfunctie verandert, is (nog) geen proefdiervrije methode beschikbaar. In cellijnen kan niet onderzocht worden hoe een metabool defect de hartfunctie verslechtert en op welke manier dit ontstaat. Humaan autopsie materiaal van het hart kan een indruk geven over de veranderingen in het hart metabolisme, maar deze studies zijn alleen uitgevoerd met hartweefsel in laatste fase van hartfalen, waarin veel mechanismes aangepast zijn. Zo kan er zonder dierproeven geen uitspraak gedaan worden over het precieze verloop van de metabole veranderingen in het hart. Voor de beantwoording van deze vraag is het dus niet mogelijk deze experimenten te vervangen door niet-dierproeven.

Vermindering Er wordt gestreefd naar een optimaal 'gebruik' van het proefdier middels het uitvoeren van verschillende analyses in één dier. Doordat MRI non-invasief is kan het gecombineerd worden met de terminale experimenten (druk volume metingen en celisolaties). Ook worden de eiwit en mRNA analyses uitgevoerd op de harten die gebruikt zijn voor ex vivo metingen van hartfunctie. De MRI geeft ons ook de mogelijkheid om op verschillende tijdstippen nauwkeurig de hartfunctie en het metabolisme in kaart te brengen. Dit vermindert ook het aantal benodigde dieren. De MI operatie wordt uitgevoerd door ervaren collega's binnen de lokale dierproefinstelling. Voor deze techniek zal niet de conventionele techniek toegepast worden, maar een nieuwe techniek (volgens Goa et al, 2010, Circ Res 107(12): 1445–1453). Het verwachte uitvalspercentage wordt hierdoor verlaagd van 30 naar 10%.

Verfijning Bij de uiteindelijke metingen is gekozen voor zeer nauwkeurige technieken (zoals MRI) en een minimum aan ongerief voor de muizen teweegbrengen (terminale anesthesie). Na optimalisatie van de zeer nauwkeurige MRI methode verwachten we geen grote technische problemen die het beantwoorden van de hoofdvraag in de weg zullen staan. De dieren zullen alleen onder terminale anesthesie gebracht worden als alle apparatuur voor de ex-vivo bepalingen tot onze beschikking is. De operatietechniek die toegepast wordt om de MI te induceren duurt korter (enkele minuten in plaats van 30 min). Hierdoor is er minder en minder lang anesthesie nodig.

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.

De muizen worden dagelijks gecontroleerd door ervaren onderzoekers en/of biotechnici. Wanneer in de muizen voor het eerst een duidelijke gewichtsafname waarneembaar is, die niet past binnen de normale dagelijkse schommelingen zal de dierproef versneld afgerond worden. Andere humane eindpunten worden vermeld onder J.

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.

nvt

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 > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Voor de operatie worden alle dieren subcutaan geïnjecteerd met het analgetica. Op de eerstvolgende twee dagen na de operaties wordt nog een bolus analgesie toegediend, beide volgens de algemene richtlijnen. De echocardiografie en drukmetingen worden gedaan onder algehele anesthesie. Voor de terminale experimenten is geen postoperatieve analgesie nodig.

De dieren die tijdens de MI operatie onder anesthesie uitvallen (met de vernieuwde techniek ongeveer 10%), zullen hier geen ongerief van ondervinden. De overige dieren vertonen de eerste dag na de operatie ongerief van de operatie, waarna ze snel herstellen. Als de gestelde humane eindpunten bereikt worden, zal onder terminale anesthesie een MRI gemaakt worden waarna het dier opgeofferd worden.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De antibiotica toediening in gezonde muizen zal niet leiden tot een welzijnsaantasting. Wel zullen dieren met HFpEF een licht ongerief hebben van de ontwikkeling van HFpEF (vooral door de obesitas en hyperglycemie). De HFrEF muizen zullen aan het eind van de dierproef matig ongerief ondervinden, door symptomen van hartfalen (zie J voor symptomen). De verwachting is dat de groep dieren die de experimentele therapie ondergaat, hier minder ongerief door zal ontwikkelen binnen het tijdsbestek van de dierproef.

Hieronder staat een overzicht van de handelingen en het verwachte ongerief.

Soort ongerief	Kwalificatie
----------------	--------------

Anesthesie voor operatie (MI)	matig
Anesthesie voor MRI (3x)	matig
Doding onder anesthesie	terminaal
Ontwikkeling hartfalen HFrEF	matig
Ontwikkeling hartfalen HFpEF	licht
Ontwikkeling hartfalen HFrEF+HFpEF	matig
* (deels) na beslisboom	

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Verslechtering van hartfalen door de antibiotica behandeling kan leiden tot additioneel ongerief door cardiale dysfunctie.

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

Indien de dieren door de behandelingen een ernstige vorm van hartfalen vertonen of dieren met cyanose, dyspneu, lethargie of een slechte verzorging door andere oorzaken, die hoger is dan verwacht zullen wij de dierproef vroegtijdig termineren. De verdere humane eindpunten zijn genoemd onder J. De kans dat de dieren geen hypertrofie ontwikkelen binnen de gestelde termijn van 12 weken schatten wij op 10%, gebaseerd op eerdere experimenten. Hierbij is rekening gehouden met het geschatte aantal benodigde dieren.

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.

De dieren worden beoordeeld en regelmatig (elke dag indien nodig) gewogen door ervaren onderzoekers / biotechnici. Ernstig lijden door het ontstaan van hartfalen wordt gesignaleerd door: het moment waarop, in de periode waarin hartfalen verwacht kan worden, voor het eerst een duidelijke gewichtsafname waarneembaar is, die niet past binnen de normale dagelijkse schommelingen. Dit komt neer op een duidelijke gewichtsafname op twee achtereenvolgende dagen (5 tot 10%) (ten opzichte van hoogste gemeten gewicht) of meer dan 8% binnen 1 dag.

Daarnaast zal door dagelijkse observatie ook gelet worden op andere klinische tekenen van hartfalen, zoals cyanose, dyspneu, lethargie en een slechte verzorging. Om het lijden van de dieren zoveel mogelijk te beperken, zal het dier opgeofferd worden.

We schatten in dat <5% van de db/db muizen die een operatie ondergaan en <1% van de overige muizen het humane eindpunt zal bereiken

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

We verwachten dat de db/db dieren (met HFpEF) die ook de HFrEF operatie ondergaan hier het meeste last van zullen krijgen. Dit studieonderdeel is om precies deze reden opgenomen na een beslisboom.

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.

Voor de verschillende behandelingen verwachten we verschillende mates van ongerief. Dit is weergegeven in de tabel onder I

Het cumulatieve ongerief voor alle dieren is matig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

Na doding van de muizen wordt het hart gebruikt voor functionele, biochemische en moleculaire analyses om het ziektemechanisme beter te doorgronden.

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef
1105 AZ AMSTERDAM

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD1180020171664
Bijlagen
1

Datum 12 september 2017
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 2 augustus 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Kwantificatie van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met 19F MRI" met aanvraagnummer AVD1180020171664. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

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.

De algemene voorwaarde(n) zijn opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

U kunt met uw project "Kwantificatie van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met 19F MRI" starten. De vergunning wordt afgegeven van 12 september 2017 tot en met 1 september 2022.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC AMC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 31 augustus 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij hebben de DEC om aanvullende informatie gevraagd. Op 18 en 31 augustus 2017 heeft de DEC gereageerd op onze vragen. Dit betrof het antwoord betreffende de aantasting van de integriteit van het dier, welk

antwoord een andere aanvraag betrof, en het aantal dieren.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Datum:

12 september 2017

Aanvraagnummer:

AVD1180020171664

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 nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven

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: Academisch Medisch Centrum
Adres: [REDACTED]
Postcode en plaats: [REDACTED] AMSTERDAM
Deelnemersnummer: 11800

deze projectvergunning voor het tijdvak 12 september 2017 tot en met 1 september 2022, voor het project "Kwantificatie van de ontstekingsrespons na een hartinfarct met 19F MRI" met aanvraagnummer AVD1180020171664, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC AMC. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Universitair Docent (UD).

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 2 augustus 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 2 augustus 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 2 augustus 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 2 augustus 2017, ontvangen op 2 augustus 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 MRI in een muismodel van ischemie/reperfusie van het hart				
	Muizen (Mus musculus) / 436 C57BL/6 en 122 C57BL/6 ApoE-/-	558	83% Matig 17% Licht	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IVD.

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen

Aanvraagnummer:
AVD1180020171664

worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IVD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:
AVD1180020171664

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 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

Aanvraagnummer:
AVD1180020171664

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 13d 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 13c 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.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.