

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM⁸
Voorblad werkprotocol CPV⁸
 Versie nov. 2005

DECNR^{1#}: 2011-121

Ontvangen[#]: 13-10-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag ²
	Nieuw / Herz. versie / Pilot

VROM/GGONR ³

LNv/CBDNR ⁴

Hoofdproject	CARIM	NUTRIM	Hersenen en gedrag	GROW	biomaterialen	Ander UM	Geen UM
--------------	-------	--------	--------------------	------	---------------	----------	---------

Deelproject	1. 2. 3.	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3.	1. 2. 3.			
-------------	----------	-------------	----------	----------	--	--	-------

Financieel beheerder	
----------------------	-------

Budgetnummer	
--------------	-------

Titel van het onderzoek:

Bepalen van hersenpenetratie van mbv een non-invasieve imaging methode.

startdatum **Oktober 2011** einddatum⁹ **Oktober 2015** Duur van de proef¹⁰: 2 dagen

	Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM)	E-mailadres	Bevoegdheid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)				Art.9	
2. Vervanger VO (VVO)				Art.9	
3. Verantwoordelijk medewerker (VM) GGO ⁷					
4. overige uitvoerenden				Art.12	
5.				Art.9	
6.				Art.9	
7.				Art. 12	
8.					
9.				Art.9	
10.				Art.9	

Diergroep	1						
ctrl/exp/sham	exp						
Diersoort	01						
Stam	FVB						
Construct / mutatie ?	-						
Herkomst (leverancier) *	02						
Aantal	54						
Geslacht	M						
Dieren immuuncompetent ?	ja						
Leeftijd/gewicht	8-14 wks						
Doel van de proef *	33						
Belang van de proef *	01						
Toxicologisch onderzoek *	01						
Bijzondere technieken *	01						
Anesthesie *	04						
Pijnbestrijding *	01						
Mate ongerief *	02						
Toestand dier einde exp*	01						

* VHL-coderingen zie bijlage

2 Verantwoording

Aanvraag dierproef DEC-UM (kaders zijn licht flexibel, maar het geheel is max. 5 pag. nov.'05)

Titel: Bepalen van hersenpenetratie van mbv een

1. Doel van de proef.

.....

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang



De aanwezigheid van de bloed-hersen barrière veroorzaakt een grote belemmering voor het bereiken van geneesmiddelen in de hersenen. Doordat geneesmiddelen deze barrière niet kunnen passeren, is het erg moeilijk om effectieve geneesmiddelconcentraties in de hersenen te bewerkstelligen en daardoor zijn vele hersenziekten (hersentumoren, Alzheimer, epilepsie etc.) moeilijk te behandelen.

.....

3. Alternatieven

.....Aangezien de bloed-hersenbarrière en de hersenen zeer complexe systemen zijn, zijn hiervoor geen *in vitro* modellen beschikbaar. Dit kan daarom alleen met een dierstudie worden onderzocht.

4. Ethische afweging

Bruikbare methoden om geneesmiddelen (.....) effectief over de bloed-hersenbarrière te transporteren zullen leiden tot sterk verbeterde behandeling van patiënten met ernstige hersenziekten. Daarnaast zijn algemeen bruikbare, niet-invasieve methoden om aanwezigheid van geneesmiddelen in de hersenen te kwantificeren erg belangrijk om zowel in dier als mens aan te kunnen tonen of geneesmiddelen (of andere stoffen) daadwerkelijk de hersenen bereiken. Wij zijn van mening dat deze voordelen opwegen tegen het ongerief van de proefdieren in deze studie.

Wetenschap

3

5. Wetenschappelijke onderbouwing

..... (DEC 2009-197) (DEC 2009-197)

6. Wetenschappelijke beoordeling

.....

Proefdier

4

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Soort: muis (8-14 weken leeftijd)

Stammen: wild-type

Herkomst: geregistreerde supplier gelicenceerd voor het fokken en verstrekken van bovenstaande muizen.

Hergebruik: eerder benutte proefdieren worden niet gebruikt, de gebruikte dieren worden speciaal gefokt voor de uitvoer van de hier beschreven studie.

Uiteindelijke bestemming van het dier na de proef: Dieren worden aan het eind van de proef opgeofferd zoals beschreven in sectie 8.

7b. Sexe

Het is wenselijk om alle proeven in de hier beschreven experimenten in één sexe uit te voeren.

7c. Aantallen

Totaal aantal dieren: $12 + 42 = 54$ dieren

..... Door de aard van de studies is uitval niet waarschijnlijk. Er is echter altijd een kleine kans dat de dieren teveel effecten ondervinden van de relatief langdurige anesthesie. De kans op uitval wordt op basis van eerdere experimenten bij geschat op 5%.

Experiment 1: pilot studie (.....)

Voor de pilot studie zijn $n = 5$ dieren per groep nodig.

$(\alpha=0.05) = 5$. $a = 5,26$. Totaal 6 dieren per groep (.....) nodig. 2 groepen dus $6 \times 2 = 12$ dieren in totaal.

Experiment 2: hoofdstudie (.....)

Volgende experimentele groepen:

-

-

-

2 tijdstippen (1 en 24 uur na toediening) $\rightarrow 2 \times 3 = 6$ groepen,

Voor het bepalen van de groepsgroottes hebben we de sample size calculation tool van de VanDerBilt University gebruikt (www.mc.vanderbilt.edu/prevmed/ps). Eerdere experimenten (DEC 2009-197) waarbij de hoeveelheid, leverden een standaarddeviatie (σ) van ongeveer 20% op. We verwachten een verschil tussen de behandelingen van ongeveer 38-40%, Als we een power van 80% aanhouden en een onbetrouwbaarheid van de toets van $\alpha = 0.05$, levert dit 5 dieren per groep op.

$n = 5$ per groep

$(\alpha=0.05) = 5$. $a = 5,26$. Totaal 6 dieren per groep nodig. 6 groepen dus $6 \times 6 = 36$ dieren in totaal

Controle groep: injectie met (controle remmer, 1 tijdstip): $(\alpha=0.05) = 5$, $a = 5,26 \rightarrow 6$ dieren

Totaal aantal dieren voor experiment 2: $36 + 6 = 42$ dieren

Dierproef

5

8. Experiment

Voor alle studies zullen mannelijke dieren tussen 8 en 14 weken gebruikt worden zodat de expressie van op de bloed-hersenbarrière tussen de verschillende groepen minimaal zal verschillen.

Gedurende alle scans in de verschillende experimenten zullen dieren gas anesthesie (isofluraan) ontvangen. Onder anesthesie wordt vervolgens een staartvenecanule aangebracht, waardoor de toegediend wordt. Dan worden de dieren gescand in de gedurende maximaal 4 uur per scan (totale anesthesie tijd). Daling van de lichaamstemperatuur tijdens de anesthesie wordt voorkomen door een gespecialiseerd verwarmingssysteem. Tijdens de scans worden de vitale functies van het dier (ademhalingssnelheid, temperatuur) continu in de gaten gehouden. Na toediening van worden bloedsamples genomen voor analyse van bloedspiegels van Per scan zullen maximaal 3 bloedsamples worden genomen (vena saphena of een sneetje in de staart, max. 40 ul per sample).

De dieren worden ieder 1 maal gescand. Na de scan worden de dieren direct ge-euthanaseerd. Na euthanasie kunnen organen en het bloed van de dieren geïsoleerd worden voor bioanalyse.

Experiment 1: pilot studie (proof of concept)

.....

In wakkere dieren wordt intraveneus geïnjecteerd. Vervolgens wordt onder anesthesie een canule aangelegd, dieren in de scanner geplaatst en wordtiv geïnjecteerd in de staartvene. Vervolgens zal een continue (totaal max 4 uur onder anesthesie) worden uitgevoerd en worden dieren ge-euthanaseerd. Op basis van de resultaten zal worden bepaald of de techniek gebruikt kan worden voor het bepalen van in de hersenen en of met de hoofdstudie verder wordt gegaan.

Groep 1: vehicle (saline/fysiologisch zout)

Groep 2:

60 min. Max 4 uur

L I+Sca Eut

L: injectie

I: Aanleggen staartvene canule, injectie

Sca: Scans, inclusief bloedafnames (max. 4 uur anesthesie)

Eut: Euthanasie

Gebroken rode lijn: onder anesthesie

Experiment 2: hoofdstudie (.....)

.....

De volgende groepen zijn te onderscheiden:

Groep 1:

Groep 2:

Groep 3:

Groep 4:

Groep 5:

Groep 6:

Groep 7:

60 min (Groep 1, 3, 5) Max 4 uur

of 24 uur (2, 4, 6)

of 15 min (groep 7)

L

I+Sca Eut

L: injectie

I: Aanleggen staartvene canule, injectie tracer

Sca: Scans, inclusief bloedafnames (max. 4 uur anesthesie)

Eut: Euthanasie

Gebroken rode lijn: onder anesthesie

9. Experimentele condities**9a. Anesthesie**

De muizen worden onder anesthesie gebracht door toediening van isofluraan (inductie 3-4%, onderhoudsconcentratie 1-2%) i.c.m. medische lucht 0.4 l/min als dragergas in een anesthesie bak en vervolgens onder anesthesie gehouden in de scanner door middel van een masker.

9b. Pijnbestrijding

Onder normale omstandigheden zullen de beschreven procedures geen pijn bij de dieren veroorzaken en zal pijnbestrijding daarom niet nodig zijn. Mocht onverwachts een dier toch verschijnselen van pijn laten zien dan zal medicatie (Temgesic = buprenorfine s.c. 0.1 mg/kg of Carprofen = Rimadyl s.c. 3 mg/kg) worden toegediend in overleg met de artikel 12 functionaris.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

- De dieren worden ge-euthanaseerd onder anesthesie dmv cervicale dislocatie door een ervaren artikel 9 of 12 functionaris, een overdosis isofluraan of pentobarbital of met behulp van een automatische O₂/CO₂ kamer.
- Ieder dier wordt direct na scannen opgeofferd voor biodistributie. Langdurige effecten als gevolg van de proef zijn daarom niet aan de orde.
- Wanneer in dieren een lichaamsgewichts afname van meer dan 15% wordt gezien, of andere macroscopische effecten zoals bloeden, abnormale neurologisch gedrag of infecties worden gezien, zal het dier prematuur worden ge-euthanaseerd na overleg met de artikel 12 of 14 functionaris.

Zorg

10a. Ongerief

Experiment 1 (pilot): Eenmaal iv injecteren Aansluitend aan de scan euthanasie onder anesthesie. Dit zal in totaal leiden tot gering/matig ongerief (code 02).

Experiment 2: Eenmaal iv injectie in wakker dier, eenmaal onder anesthesie iv injecteren van, scannen (max. 4 uur anesthesie per scanperiode) en bloedafnames (max. driemaal per scan). Aansluitend aan de scan euthanasie onder anesthesie. Dit zal in totaal leiden tot gering/matig ongerief (code 02).

Experiment 1 en 2

Procedure	herhaling	Duur	Ongerief code
Iv injectie in wakker dier	1	3 min	02
Onder anesthesie cannulatie van de staart vene	1	15 min	02
Injectie onder anesthesie	1	1 min	02
Bloedafnames onder anesthesie	Max 3	1 min	02
Scannen onder anesthesie, aansluitend euthanasie	1	4 uur	02
Euthanasie onder anesthesie	1	2 min	02
Total			02

10b. Welzijnsevaluatie

Op de locatie zijn al meerdere experimenten uitgevoerd waarbij het ongerief van muizen en ratten is bepaald. Tot nu toe is nooit een hogere mate van ongerief dan 03 gevonden, wanneer 3 maal gescand werd. In deze studie wordt ieder dier slechts eenmaal gescand en zal het ongerief dus lager zijn. Er zijn geen toxische effecten gevonden voor, ook niet op langere termijn. De verantwoordelijk onderzoeker (1), vervangend verantwoordelijk onderzoeker (2) of artikel 12 functionaris evalueren na ieder experiment de conditie en mate van ongerief na afloop van de studie. De dieren worden verder dagelijks gemonitord door een artikel 12 functionaris en hun conditie wordt daarbij gedocumenteerd.

11. Verzorging en huisvesting

..... Zij worden verzorgd volgens standaard procedures door artikel 12 medewerkers van de Universiteit Maastricht. In het geval van onverwachte gebeurtenissen die het welzijn van het dier kunnen beïnvloeden, zal de artikel 12 functionaris direct op de hoogte gesteld worden.

12. Deskundigheid

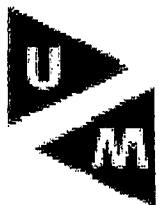
Ervaren artikel 9 en 12 functionarissen zullen tijdens het experiment met de dieren omgaan. Zij hebben uitgebreide ervaring met verzorging, injecties, anesthesie, en euthanasie van ratten en muizen.

13. Standard Operation Procedures (SOP)

.....

Relevante literatuur

.....



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine

and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

, voorzitter
p/a Secretariaat DEC-UM
Postbus 616
NL-6200 MD Maastricht
Telefoon:

Uw referentie:

Onze referentie : I

Maastricht, 28-09-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Bepalen van hersenpenetratie van mbv een non-invasieve imaging methode*", is op de DEC vergadering van 23 september 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- De DEC merkt op dat er voor de berekening van de groepsgrootte van experiment 2 wel een powerberekening nodig is, aangezien hier verschillen van behandelingseffecten onderzocht worden.
- De DEC vraagt zich af waarom bij groep 7 (referentieremmer) na 15 minuten wordt gescand in plaats van na 1 uur of 24 uur.

Gelieve eventuele vragen te beantwoorden in een brief en indien noodzakelijk Uw project aan te passen en duidelijk de aanpassingen grijs te markeren.

Uw project staat bij de DEC geregistreerd onder nummer 2011-121, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Quaden M (CRISP)

From: ...
Sent: donderdag 13 oktober 2011 9:54
To: ...
Subject: RE: Project 2011-121-w, respons MQ-508-11
Attachments: 20111013_2011-121_..._MQ-508-11.docx

Beste Marianne,

Ik heb de uitleesparameter toegevoegd: de hoeveelheid [^{18}F]-gefitinib in de hersenen gemeten mbv PET.

De tekst ziet er nu als volgt uit:

“Voor het bepalen van de groepsgroottes hebben we de sample size calculation tool van de VanDerBilt University gebruikt (www.mc.vanderbilt.edu/prevmed/ps). Eerdere experimenten (DEC 2009-197) waarbij de hoeveelheid [^{18}F]-gefitinib in de hersenen werd bepaald mbv PET, leverden een standaarddeviatie (σ) van ongeveer 20% op. We verwachten een verschil tussen de behandelingen van ongeveer 38-40% op basis van de PET images. Als we een power van 80% aanhouden en een onbetrouwbaarheid van de toets van $\alpha = 0.05$, levert dit 5 dieren per groep op.”

Met vriendelijke groet,

Email:

From: L...
Sent: Thursday 13 October 2011 8:53
To: ...
Subject: FW: Project 2011-121-w, respons MQ-508-11

Dag !

De DEC heeft de herziene versie beoordeeld maar heeft nog 'n vraag:

-De DEC verzoekt nog aan te geven op welke uitleesparameter de nu vermelde spreiding en verschil betrekking hebben (ontbreekt nu nog bij 7c).

Graga je reactie.

Met vriendelijke groet namens DEC-UM:

Ambtelijk Secretaris Dierexperimentencommissie

Postbus 616- , 6200 MD Maastricht

T
F

Werktijden: Ma-Di-Wo-Don van 08.00 uur tot 16.00 uur

13-10-2011

From**Sent:** donderdag 29 september 2011 12:42**To:****Subject:** RE: Project 2011-121-w, respons MQ-508-11

Beste secretaris DEC

In antwoord op de vragen/opmerkingen van de DEC naar aanleiding van projectaanvraag 2011-121:

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- De DEC merkt op dat er voor de berekening van de groepsgrootte van experiment 2 wel een powerberekening nodig is, aangezien hier verschillen van behandelingseffecten onderzocht worden.

De volgende powerberekening is toegevoegd:

Voor het bepalen van de groepsgroottes hebben we de sample size calculation tool van de VanDerBilt University gebruikt (www.mc.vanderbilt.edu/prevmed/ps). Eerdere experimenten (DEC 2009-197) leverden een standaarddeviatie (σ) van ongeveer 20% op. We verwachten een verschil tussen de behandelingen van ongeveer 38-40%. Als we een power van 80% aanhouden en een onbetrouwbaarheid van de toets van $\alpha = 0.05$, levert dit 5 dieren per groep op.

- De DEC vraagt zich af waarom bij groep 7 (referentieremmer) na 15 minuten wordt gescand in plaats van na 1 uur of 24 uur.

De piekconcentratie van de referentieremmer (die niet in een liposomale formulering wordt toegediend) in het bloed wordt verwacht op 30-60 minuten na injectie. Vandaar dat in deze periode wordt gescand (vanaf 15 min, scan van 1 uur). Voor de liposomale formuleringen worden piekconcentraties op 90-120 minuten na injectie verwacht (en wordt dus in die periode gescand). Verder zullen de liposomale formuleringen langer (tot enkele dagen) in het bloed circuleren, wat de reden is dat ook na 24 uur het effect d.m.v. een scan zal worden bepaald.

Bovenstaande antwoorden zijn in de aanvraag aangepast en in grijs gemarkeerd.
Hopende hiermee afdoende de vragen van de DEC te hebben beantwoord,

Met vriendelijke groet,

 S

Phone +

Email

From:**Sent:** Wednesday 28 September 2011 14:27**To:** V**Subject:** Project 2011-121-w

Geachte onderzoeker,

Uw projectaanvraag is in de DEC-UM – vergadering van 23 september 2011 besproken.

De uitslag treft u aan in bijgaand attachment.

Voortaan zult u uit efficiency overweging geen schriftelijke bevestiging meer ontvangen per post wanneer het een wijzigingsbrief betreft.

De DEC verzoekt U in een brief de vragen van de DEC te beantwoorden en de wijzigingen in het protocol duidelijk grijs te markeren, zodat het bij het kopiëren ook zichtbaar is.

Aanvragen die zonder brief of niet compleet worden aangeleverd zullen niet worden

13-10-2011

behandeld door de DEC-UM.

Met vriendelijke groet namens DEC-UM:

Ambtelijk Secretaris Dierexperimentencommissie

Postbus 616-L 6200 MD Maastricht

T 0 ..

E-mail: -

Werktijden: Ma-Di-Wo-Don van 08.00 uur tot 16.00 uur

The information contained in this message may be confidential and legally protected under applicable law. The message is intended solely for the addressee(s). If you are not the intended recipient, you are hereby notified that any use, forwarding, dissemination, or reproduction of this message is strictly prohibited and may be unlawful. If you are not the intended recipient, please contact the sender by return e-mail and destroy all copies of the original message.

13-10-2011



Aan:

Ons kenmerk

Doorkiesnummer

Maastricht
14-10-2011

Project: *Bepalen van hersenpenetratie van
mbv een non-invasieve imaging methode.*

DEC-UM
Voorzitter DEC-UM

Verantwoordelijk onderzoeker (VO):

p/a secretariaat DEC-UM

Secretariaat DEC-UM

Namens de Vergunninghouder van de DEC-UM, delen wij u mede dat voornoemd project aan de ethische toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.

Bezoekadres

De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals aangevraagd en geeft een **positief advies**.

Postadres
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Projectnummer: 2011-121

Diersoort: muis

Aantal dieren: 54

Einddatum: 14-10-2015

Uw project staat bij de DEC en CPV geregistreerd onder bovenstaand nummer. Gelieve dieren, die voor dit project bestemd zijn, ook onder dit nummer aan te vragen.

Voorzitter DEC-UM

Vicevoorzitter DEC-UM