

	Dossier: AVD1150020174266	
		Aanwezig
1	NTS	X
2	Aanvraagformulier	X
3	Projectvoorstel	X
4	Bijlage beschrijving dierproeven	X
5	DEC-advies	X
6	Ontvangstbevestiging	X
	Evt. Vragen CCD aan aanvrager	X
	Evt. antwoorden aanvrager	
7	Beschikking en vergunning	X



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.zl
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- | | |
|------------------------------|--|
| 1.1 Titel van het project | Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie |
| 1.2 Looptijd van het project | 1 februari 2018 - 31 december 2021 |
| 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Hyperthermie, radiosensitizer, radiotherapie, liposomen, chemo-radiotherapie |

2 Categorie van het project

- | | |
|--|---|
| 2.1 In welke categorie valt het project.

<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | ☒ Fundamenteel onderzoek |
| | ☒ Translationeel of toegepast onderzoek |
| | ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie |
| | ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier |
| | ☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort |
| | ☐ Hoger onderwijs of opleiding |
| | ☐ Forensisch onderzoek |
| | ☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven |

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Veel kankerpatiënten krijgen te maken met radiotherapie (bestraling) tijdens hun behandeling. Het doel van de radiotherapie is het vernietigen van het kankerweefsel en daarbij het gezonde weefsel eromheen zo min mogelijk te beschadigen. Helaas komt er altijd een deel van de straling terecht in de gezonde organen rond de tumor. Dit zorgt voor ongewenste bijwerkingen en beperkt de bestralingsdosis die aan de tumor gegeven kan worden. In dit project gaan we een nieuwe methode testen die de effectiviteit van de bestraling in de tumor vergroot, terwijl schade aan omliggende weefsels grotendeels wordt vermeden. Dit zou kunnen leiden tot een langere (ziektevrije) overleving en een verbeterde kwaliteit van leven van kankerpatiënten. Dit is mogelijk door alleen in de tumor in een geneesmiddel, een zogenaamde radiosensitizer, te deponeren dat ervoor zorgt dat de (tumor)cellen gevoeliger worden voor de bestraling. In onze nieuwe methode kunnen we dit bereiken door de radiosensitizer in te pakken in een temperatuurgevoelig nanodeeltje. Deze nanodeeltjes barsten open als zij opgewarmd worden (boven de 40 graden Celsius), waardoor de inhoud naar buiten komt. Door nu alleen de tumor op te warmen zal de radiosensitizer alleen in de tumor terecht komen en daar het effect van de bestraling versterken. De doelstelling van deze studie is de effectiviteit en bijwerkingen van deze temperatuurgevoelige nanodeeltjes beladen met radiosensitizers in combinatie met lokale verwarming (=hyperthermie) en bestraling van de tumor te vergelijken met de effectiviteit en bijwerkingen van alleen bestraling, bestraling samen met een radiosensitizer en bestraling samen met een radiosensitizer in een niet-temperatuurgevoelig nanodeeltje.
3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	De aanwezigheid van de radiosensitizer alleen in de tumor zorgt ervoor dat het effect van de bestraling ook alleen in de tumor wordt vergroot zonder dat de bijwerkingen in omliggende gezonde weefsels veranderen. Op deze manier kan ook de kans op ernstige bijwerkingen worden verkleind bij een gelijkblijvende tumordosis. In beide gevallen zou dit kunnen leiden tot een langere (ziektevrije) overleving en/of een verbeterde kwaliteit van leven van kankerpatiënten.
3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	In totaal worden er in deze studie 470 muizen gebruikt.
3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	Dit protocol bestaat uit 2 fases: In de eerste fase worden de dieren gebruikt voor trainingsdoeleinden. Deze dieren zullen ongerief ondervinden vanwege de training. De training wordt echter gegeven door een expert terwijl de dieren onder narcose zijn, waardoor de negatieve gevolgen van het welzijn zo veel mogelijk worden beperkt. In de tweede fase wordt de effectiviteit en bijwerkingen van temperatuurgevoelig nanodeeltjes geladen met radiosensitizers in combinatie met verwarming en bestraling van de tumor onderzocht. Hiervoor krijgen de dieren een tumor. Daarnaast wordt het welzijn van het dier aangetast, tijdens de behandeling met radiosensitizer en de bestraling. De dieren zijn tijdens de behandelingen onder narcose om de negatieve gevolgen van het welzijn zo veel mogelijk te beperken.

3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Alle dieren, uit beide fases, zullen matig ongerief ondervinden
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren die gebruikt worden voor traings-doeleinden kunnen hierna hergebruikt worden. De dieren die gebruikt worden voor het onderzoeken van de effectiviteit en bijwerkingen van temperatuurgevoelig nanodeeltjes beladen met radiosensitizers in combinatie met verwarming en bestraling van de tumor worden na het experiment gedood zodat de tumor en organen geanalyseerd kunnen worden.

4 Drie V's

4.1	Vervanging Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	Voordat de radiosensitizer in een nanodeeltje in combinatie met radiotherapie worden getest in proefdieren is er eerst uitvoerig onderzoek uitgevoerd zonder proefdieren (=in vitro). In deze experimenten is aangetoond dat een radiosensitizer verpakt in een temperatuurgevoelig nanodeeltje ongewenste bijwerking (celdood) vermindert t.o.v. vrije radiosensitizer. Terwijl radiosensitizer die vrijkomen door het openbarsten van de temperatuurgevoelige nanodeeltjes bij verhoogde temperaturen doden cellen net zo goed als vrije radiosensitizers. Maar uiteindelijk is kanker een ingewikkelde ziekte. Het is daarom niet bewezen dat de resultaten van deze cel experimenten ook gelden in levende wezens, wat experimenten in dieren noodzakelijk maakt.
4.2	Vermindering Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Door een statistische analyse en door de opzet van de proef wordt voorkomen dat er teveel of te weinig dieren worden gebruikt. In eerder onderzoek hebben we de verwarmingsmethode al geoptimaliseerd, het geen mogelijk uitval van dieren door problemen tijdens de verwarming minimaliseert. Verder hebben we in eerder onderzoek de dose-response van de individuele therapieën al bepaald, zodat we in het huidige onderzoek met een beperkt aantal doses, en dus dieren, e benodigde experimenten kunnen uitvoeren
4.3	Verfijning Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar	Als proefdier is gekozen voor de naakte-muizen. In deze muizen is het mogelijk om humane tumorcellen te laten groeien. En voor het onderzoek is het noodzakelijk dat de dieren tumoren krijgen. We willen immers het effect van de behandeling op

waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

humane tumoren te onderzoeken.

De dieren worden regelmatig gecontroleerd op welzijn en tumorgroei om onnodig ongerief te voorkomen. Op deze wijze willen we het ongerief zo snel mogelijk waarnemen om hier actie in te kunnen ondernemen.

Ingrijpende handelingen worden zoveel mogelijk onder anesthesie adequaat uitgevoerd, waar nodig met pijnstilling.

De dieren worden regelmatig gehanteerd zodat ze dit niet meer als stressvol wordt ervaren.

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

De experimenten worden uitgevoerd volgens een vast protocol en door getrainde onderzoekers. Hierdoor ondervinden de dieren zo min mogelijk stress en ongemak. De dieren uit de tweede fase krijgen een tumor, hier zullen zij hinder aan ondervinden. De dieren worden regelmatig gecontroleerd op welzijn, om onnodig ongerief te voorkomen. Daarnaast worden de dieren tijdens behandelingen onder anesthesie gebracht. Bij verwachte pijnlijke handelingen wordt pijnstilling toegepast.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



Centrale Commissie Dierproeven

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 11500 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen																
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Naam instelling of organisatie</td> <td>UMC Utrecht</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td></td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>30244197</td> </tr> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td>80125</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>3508 TC Utrecht</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td>NL271INGB0000425267</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td>Universiteit Utrecht</td> </tr> </table>	Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde		KvK-nummer	30244197	Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht	Postbus	80125	Postcode en plaats	3508 TC Utrecht	IBAN	NL271INGB0000425267	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht
Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht																	
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde																		
KvK-nummer	30244197																	
Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht																	
Postbus	80125																	
Postcode en plaats	3508 TC Utrecht																	
IBAN	NL271INGB0000425267																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht																	
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 border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Postbus</td> <td>80125</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>3508 TC Utrecht</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td>NL271INGB0000425267</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td>Universiteit Utrecht</td> </tr> </table>	Postbus	80125	Postcode en plaats	3508 TC Utrecht	IBAN	NL271INGB0000425267	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht								
Postbus	80125																	
Postcode en plaats	3508 TC Utrecht																	
IBAN	NL271INGB0000425267																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht																	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td></td> <td style="width: 50%; text-align: right;"> ☒ Dhr. ☐ Mw. </td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>Researcher</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td>Beeld</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters		☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	Researcher		Afdeling	Beeld		Telefoonnummer			E-mailadres			
(Titel) Naam en voorletters		☒ Dhr. ☐ Mw.																
Functie	Researcher																	
Afdeling	Beeld																	
Telefoonnummer																		
E-mailadres																		
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td></td> <td style="width: 50%; text-align: right;"> ☐ Dhr. ☒ Mw. </td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>OIO</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td>Beeld</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☒ Mw.	Functie	OIO		Afdeling	Beeld		Telefoonnummer			E-mailadres			
(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☒ Mw.																
Functie	OIO																	
Afdeling	Beeld																	
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 <i>Melding Machtiging</i> 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 <i>wijziging</i> 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 <i>melding</i> 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 - 2 - 2018
	Einddatum	31 - 12 - 2021
3.2 Wat is de titel van het project?	Lokale radiosensitizer afgifte met behulp hyperthermie	
3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?	Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie	
3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?	Naam DEC	DEC Utrecht
	Postadres	Postbus 85500 3508 GA Utrecht
	E-mailadres	dec-utrecht@umcutrecht.nl

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 gehuust 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

Datum

Handtekening

Utrecht

30 - 11 / 2017



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.

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 11500
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. UMC Utrecht
- 1.3 Vul de titel van het project in. Lokale radiosensitizer afgifte met behulp hyperthermie

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- ☒ Fundamenteel onderzoek
 - ☒ Translationeel of toegepast onderzoek
 - ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
 - ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
 - ☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
 - ☐ Hoger onderwijs of opleiding
 - ☐ Forensisch onderzoek
 - ☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

Achtergrond algemene projectbeschrijving

Dit projectvoorstel bevat experimenten in de afsluitende fase.

Radiotherapie (RT) is een van de meest gebruikte behandelmethoden voor het behandelen van lokale tumoren, alleen of in combinatie met een andere modaliteit zoals chemotherapie of chirurgie [1]. Ondanks veel technische verbeteringen van de bestralingstechnieken, om de tumor met grote nauwkeurigheid te bestralen, is er nog steeds onliggend gezond weefsel dat gedeeltelijk bestraling ontvangt. Hierdoor ontstaan er ongewenste bijwerkingen in het gezonde weefsel en kan de dosis van de bestraling aan de tumor niet verhoogd worden. De toxiciteit in het gezonde weefsel is afhankelijk van de locatie van de bestraling, en bestaat onder andere uit ontsteking van de huid en slijmvlies en beenmerg depressie [2]. Doordat de stralingsdosis van de tumor niet verder verhoogd kan worden vanwege de toxiciteit, is RT niet altijd voldoende effectief [2].

De effectiviteit van RT kan worden verhoogd door deze te combineren met een radiosensitizer, dit wordt ook wel chemoradiotherapie genoemd [3]. De radiosensitizer maakt cellen gevoeliger voor de ioniserende straling en zorgt er dus voor dat er meer cellen dood gaan aan dezelfde bestralingsdosis [4]. Chemoradiotherapie is tegenwoordig de standaard behandeling bij moeilijk te behandelen tumoren zoals maag, hoofd hals, baarmoederhals tumoren en weke delen sarcoom [5-8]. In de kliniek worden vaak radiosensitizers gebruikt die niet alleen de gevoeligheid voor ioniserend straling verhogen, maar zelf ook een direct toxisch effect op de cellen hebben. Daarom zorgt de chemoradiotherapie in veel gevallen niet alleen voor een verbeterde effectiviteit van de RT, maar ook voor een verhoging van de ongewenste bijwerkingen.

De radiosensitizer die in deze studie gebruikt wordt, doxorubicine (DOX), is een dergelijk radiosensitizer die zowel cellen gevoeliger maakt voor ioniserende stralen, maar ook in afwezigheid van deze straling toxisch is voor cellen [9]. De combinatie van RT en DOX zorgt vooral voor een verhoging van de cardiotoxiciteit (toxiciteit van het hart) en ontstekingen van de huid [10]. Deze bijwerkingen komen vooral doordat de radiosensitizer systemisch wordt toegediend en daardoor, naast de tumor, ook in het gezonde weefsel terecht komt. Door de DOX in te pakken in conventionele liposomen of Temperatuur Gevoelige Liposomen (TSL) wordt de ongewenste toxiciteit in het gezonde weefsel verminderd [11, 12].

De liposomen zorgen niet alleen voor een verminderde toxiciteit, maar verhogen ook de effectiviteit van de therapie door ophoping van de DOX in de tumor. Bij conventionele liposomen geladen met DOX (DOXIL) wordt de tumor specifieke ophoping veroorzaakt door het zogenaamde Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect. Het EPR effect ontstaat doordat er 'gaten' in de tumor vaatwand zitten in combinatie met een verminderde werking van het lymfe systeem in de tumor. Op deze manier kunnen de liposomen wel gemakkelijk het vat verlaten, maar worden vervolgens niet afgevoerd door het lymfe systeem met als gevolg ophoping van de liposomen in de tumor [13]. Eenmaal in de tumor geeft DOXIL over een lange periode (dagen) een kleine

hoeveelheid DOX af. In diermodellen heeft men aangetoond dat DOXIL zorgt voor een verbetering in overleving ten opzichte van vrije DOX [14]. In patiënten met gemetastaseerde borstkanker zorgt DOXIL voor een verminderde toxiciteit ten opzichte van vrij toegediende DOX, er is echter geen toename in overleving [12]. De vergelijkbare overleving tussen vrij toegediende DOX en DOXIL wordt toegeschreven aan het heterogene EPR effect in humane tumoren [15] en de langzame DOX afgifte uit de liposomen wat resulteert in een lage biologische beschikbaarheid van de DOX [16, 17].

Om niet afhankelijk te zijn van het EPR effect zijn er TSL geladen met DOX ontwikkeld, genaamd ThermoDox. Bij een temperatuur boven de 40 °C wordt de DOX snel vrijgezet uit de ThermoDox. Wanneer ThermoDox door een verwarmde tumor stroomt, leidt dit tot een hoge DOX concentratie in het bloedvat. De DOX diffundeert vervolgens uit de bloedvaten in het tumor weefsel. Dit resulteert in een hoge, homogene verdeling van biologisch beschikbare DOX [18-20] en in een langere overleving *in vivo* ten opzichte van vrij toegediende DOX [21, 22]. Bij een temperatuur van 37 °C, lichaamstemperatuur, vindt er weinig lekkage van DOX uit de ThermoDox liposomen plaats, waardoor de toxiciteit in het gezonde weefsel kan worden beperkt.

In deze studie willen we het concept lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom onderzoeken om de effectiviteit van RT te verbeteren en tevens de toxiciteit in het gezonde weefsel te verminderen. DOXIL en ThermoDox worden in deze studie gebruikt als liposoom beladen met de radiosensitizer DOX.

Uit ons eigen *in vitro* onderzoek (artikel in voorbereiding) is het concept van lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom onderzocht met behulp van ThermoDox. Wij hebben aangetoond dat DOX cellen gevoeliger maakt voor bestraling, zoals bekend uit de literatuur [9]. Verder laten we zien dat de incubatie van cellen met ThermoDox op 43 °C leidt tot een lagere overleving dan incubatie met ThermoDox op 37 °C. De overleving na incubatie met ThermoDox op 43 °C is vergelijkbaar met de overleving na het toedienen van dezelfde concentratie DOX. RT in combinatie met ThermoDox op 37 °C zorgt voor een vergelijkbare toxiciteit als RT alleen, terwijl RT in combinatie met ThermoDox op 43 °C zorgt voor een vergelijkbare toxiciteit als DOX op 43 °C in combinatie met RT. Deze *in vitro* resultaten tonen aan dat het concept van lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom leidt tot het gewenste resultaat, namelijk hogere effectiviteit in de verwarmde (tumor) cellen en minder/vergelijkbare toxiciteit in de niet verwarmde cellen.

Vervolgens hebben wij in een *in vivo* onderzoek in muizen (Onderzoeksplan met DEC toestemming tot 31 december 2017; artikel in voorbereiding) het effect van verschillende concentraties DOX, DOXIL en ThermoDox in combinatie met hyperthermie en verschillende dosissen RT op de tumorgroei onderzocht. Uit dit onderzoek is geconcludeerd dat voor drie vormen van DOX een toename in concentratie zorgt voor een verminderde tumorgroei met als gevolg een toename in overleving van de dieren. Daarnaast zorgen DOXIL en ThermoDox voor een verbeterde overleving ten opzichte van DOX. In dit onderzoek is geen toxiciteit van normaal weefsel waargenomen. In het huidige project voorstel wordt gebruik gemaakt van deze resultaten.

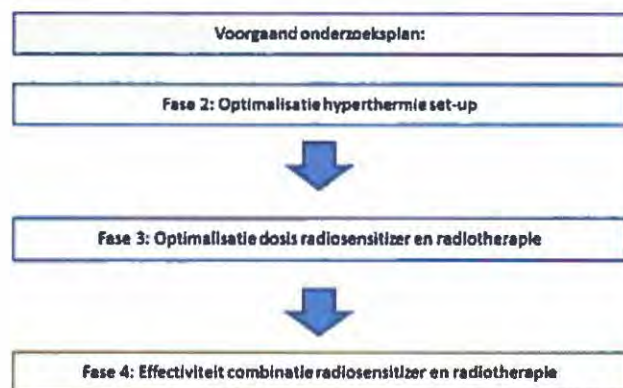
In de voorgaande en huidige *in vivo* studie wordt de subcutane tumor op de poot van de muis verwarmd met behulp van een waterbad, op deze manier kunnen wij het welzijn van het dier goed in de gaten houden. Het doel van het waterbad is om de temperatuur van de tumor te verhogen naar 42 °C. Een alternatieve methode om de tumor gecontroleerd op te warmen is het gebruik van High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) in combinatie met Magnetic Resonance Imaging (MRI) gestuurd beeldgeleiding (MR-HIFU) of Dual Mode Ultrasound Array (DMUA). In beide methodes wordt (gefocuseerd) ultrageluid gebruikt om het weefsel op te warmen en wordt MRI of US beeldvorming gebruikt om de opwarming te lokaliseren en te reguleren. Wij hebben overwogen om MR-HIFU te gebruiken in onze *in vivo* studies zoals hierboven beschreven, maar wij zijn van mening dat dit geen meerwaarde heeft en alleen tot extra ongerief bij de dieren kan leiden. Daarnaast is MR-HIFU en DMUA-HIFU hyperthermie behandeling van kleine dieren erg moeilijk en heeft dus grote kans op falen t.o.v. waterbad, terwijl het eindelijk effect, opwarmen van de tumor, gelijk is. MR-HIFU kan wel in een later stadium gebruikt worden voor het creëren van hyperthermie in veterinaire en humane patiënten.

Deze projectaanvraag wordt voor een periode van 4 jaar aangevraagd. Deze tijdsperiode is berekend aan de hand van de volgende punten. Zoals in de bijlage vermeldt staat, worden er 440 dieren behandeld. Uit ervaring, uit het vorige onderzoeksplan, is gebleken dat het haalbaar is om 20 dieren per maand

te behandelen en op te volgen. Dit komt erop naartoe dat er 22 maanden voor nodig om alle experimenten uit te voeren als er continu doorgedaan wordt met het onderzoek. Met toevoeging van vakanties en follow up van de dieren, komen we uit op 2,5 jaar. In de tussentijd zal het project overgedragen worden aan een nieuwe PhD student, doordat het contract van de huidige PhD student af loopt. We verwachten dat hier maximaal 1,5 jaar voor nodig is. Vandaar dat we uitkomen om een periode van 4 jaar.

De hier beschreven *in vivo* studie maakt deel uit van een groter onderzoeksprogramma waarin wij het concept van lokale radiosensitizer afgifte uit liposomen naar de kliniek willen brengen. Hiervoor zijn we in samenwerking met de faculteit diergeneeskunde een studie aan het opzetten waarbij ThermoDox wordt gecombineerd met MR-HIFU geïnduceerde hyperthermie en RT in weke delen sarcomen bij honden. Daarnaast zijn we in overleg met chirurgen om een veiligheids- en haalbaarheidsstudie voor MR-HIFU hyperthermie weke delen sarcoom bij humane patiënten op te zetten.

Opbouw van het vorige onderzoeksplan:



Fase 2 en 3 zijn uitgevoerd in een eerder onderzoeksplan met DEC vergunning tot 31 december 2017. Hieronder kort de conclusies van deze fases

Fase 2: Optimalisatie hyperthermie set-up

Het is mogelijk om de tumor op te warmen tot 42 °C met behulp van een waterbad en de lichaamstemperatuur van de muis constant tussen 36 en 38°C te houden.

Fase 3: Optimalisatie dosis radiosensitizer en radiotherapie

De histologische analyses voor het detecteren van (functionele) bloedvaten, hypoxische gebieden en delende cellen op weefselcoupes zijn geoptimaliseerd. De effectiviteit van verschillende concentraties DOX, DOXIL en ThermoDox en doses RT zijn onderzocht. Hieruit is gebleken dat een dosis van 2.5 mg/kg bij

zowel DOX, DOXIL en ThermoDox voor een vermindering in tumorgroei zorgt. De vermindering in tumorgroei is bij DOXIL en ThermoDox sterker dan bij DOX. Een hogere concentratie DOX, DOXIL of ThermoDox zorgt voor een toename in overleving en bij enkele dieren verdween de tumor helemaal. Het bestralen van een tumor met een stralingsdosis van 8 Gy zorgt voor een verminderde tumorgroei. Een lagere dosis zorgde niet voor een verminderde tumor groei en een hogere dosis gaf eenzelfde effectiviteit als 8 Gy. Al deze experimenten zijn in deze fase uitgevoerd als monotherapie. In deze fase is gezocht naar een suboptimale dosis, zodat het effect van de combinatie therapieën onderzocht kan worden. Vandaar dat in fase 4 een concentratie van 2,5 mg/kg gebruikt wordt voor DOX, DOXIL en ThermoDox en een bestralingsdosis van 8 Gy.

Al deze voorbereidende experimenten (fase 2 en 3) zijn uitgevoerd in een eerder onderzoeksplan met DEC vergunning tot 31 december 2017. Er is nog niet begonnen met fase 4 van dit onderzoeksplan.

Fase 4: Effectiviteit combinatie radiosensitizer en radiotherapie

Deze fase is nog niet gestart in het voorgaand onderzoeksplan dat verloopt op 31 december 2017. Het doel van deze fase is het onderzoeken van de effectiviteit van lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom (DOXIL of ThermoDox) in combinatie met conventionele RT ten opzichte van vrij toegediende radiosensitizer in combinatie met conventionele RT.

In deze projectaanvraag wordt toestemming gevraagd om de experimenten waarbij de radiosensitizer gecombineerd wordt met radiotherapie (Fase 4) toegepast alsnog uit te voeren.

In alle onderzoeken die tot nu toe uitgevoerd zijn, is gebruik gemaakt van DOX als een radiosensitizer, doordat DOXIL en ThermoDox al commercieel aanwezig zijn voor klinische onderzoeken. In de kliniek worden DOX en RT voornamelijk gebruikt in de behandeling van weken delen sarcoma's, vandaar dat er besloten is om in dit onderzoek gebruik te maken van een humaan fibrosarcom.

Referenties

1. Bischoff, P., A. Altmeyer, and F. Dumont, *Radiosensitising agents for the radiotherapy of cancer: advances in traditional and hypoxia targeted radiosensitisers*. Expert Opin Ther Pat, 2009. 19(5): p. 643-62.
2. Barnett, G.C., et al., *Normal tissue reactions to radiotherapy: towards tailoring treatment dose by genotype*. Nat Rev Cancer, 2009. 9(2): p. 134-42.
3. Vokes, E.E. and R.R. Weichselbaum, *Concomitant chemoradiotherapy: rationale and clinical experience in patients with solid tumors*. J Clin Oncol, 1990. 8(5): p. 911-34.
4. Seiwert, T.Y., J.K. Salama, and E.E. Vokes, *The concurrent chemoradiation paradigm--general principles*. Nat Clin Pract Oncol, 2007. 4(2): p. 86-100.
5. Eilber, F.R., et al., *Limb salvage for skeletal and soft tissue sarcomas. Multidisciplinary preoperative therapy*. Cancer, 1984. 53(12): p. 2579-84.
6. Green, J., et al., *Concomitant chemotherapy and radiation therapy for cancer of the uterine cervix*. Cochrane Database Syst Rev, 2005(3): p. CD002225.
7. Milas, L., et al., *Chemoradiotherapy: emerging treatment improvement strategies*. Head Neck, 2003. 25(2): p. 152-67.
8. Xiong, H.Q., et al., *Chemoradiation for resectable gastric cancer*. Lancet Oncol, 2003. 4(8): p. 498-505.
9. Bonner, J.A. and T.S. Lawrence, *Doxorubicin decreases the repair of radiation-induced DNA damage*. Int J Radiat Biol, 1990. 57(1): p. 55-64.
10. Myrehaug, S., et al., *Cardiac morbidity following modern treatment for Hodgkin lymphoma: supra-additive cardiotoxicity of doxorubicin and radiation therapy*. Leuk Lymphoma, 2008. 49(8): p. 1486-93.
11. Gabizon, A. and F. Martin, *Polyethylene glycol-coated (pegylated) liposomal doxorubicin. Rationale for use in solid tumours*. Drugs, 1997. 54 Suppl 4: p. 15-21.
12. O'Brien, M.E., et al., *Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer*. Ann Oncol, 2004. 15(3): p. 440-9.
13. Immordino, M.L., F. Dosio, and L. Cattel, *Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential*. Int J Nanomedicine, 2006. 1(3): p. 297-

315.

14. Gabizon, A., H. Shmeeda, and Y. Barenholz, *Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin: review of animal and human studies*. Clin Pharmacokinet, 2003. 42(5): p. 419-36.
15. Lammers, T., et al., *Drug targeting to tumors: principles, pitfalls and (pre-) clinical progress*. J Control Release, 2012. 161(2): p. 175-87.
16. Charrois, G.J. and T.M. Allen, *Drug release rate influences the pharmacokinetics, biodistribution, therapeutic activity, and toxicity of pegylated liposomal doxorubicin formulations in murine breast cancer*. Biochim Biophys Acta, 2004. 1663(1-2): p. 167-77.
17. Laginha, K.M., et al., *Determination of doxorubicin levels in whole tumor and tumor nuclei in murine breast cancer tumors*. Clin Cancer Res, 2005. 11(19 Pt 1): p. 6944-9.
18. Manzoor, A.A., et al., *Overcoming limitations in nanoparticle drug delivery: triggered, intravascular release to improve drug penetration into tumors*. Cancer Res, 2012. 72(21): p. 5566-75.
19. Ranjan, A., et al., *Image-guided drug delivery with magnetic resonance guided high intensity focused ultrasound and temperature sensitive liposomes in a rabbit Vx2 tumor model*. J Control Release, 2012. 158(3): p. 487-94.
20. Staruch, R.M., et al., *Enhanced drug delivery in rabbit VX2 tumours using thermosensitive liposomes and MRI-controlled focused ultrasound hyperthermia*. Int J Hyperthermia, 2012. 28(8): p. 776-87.
21. Needham, D., et al., *A new temperature-sensitive liposome for use with mild hyperthermia: characterization and testing in a human tumor xenograft model*. Cancer Res, 2000. 60(5): p. 1197-201.
22. Yarmolenko, P.S., et al., *Comparative effects of thermosensitive doxorubicin-containing liposomes and hyperthermia in human and murine tumours*. Int J Hyperthermia, 2010. 26(5): p. 485-98.

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?

Sinds 2000 is deze onderzoeksgroep bezig met beeldgestuurd medicijn depositie (= image-guided drug delivery). Denk hierbij o.a. aan het vrijzetten van chemotherapeuticum uit liposomen en het verbeteren van de opname chemotherapeuticum in tumorcellen d.m.v. beeld gestuurde ultrageluidbehandelingen. Een deel van de groep houdt zich sinds enkele jaren bezig met de lokale afgifte van een radiosensitizer uit liposomen. Met behulp van *in vitro* resultaten is vastgesteld dat lokale afgifte van een radiosensitizer een potentie heeft voor het verbeteren van de effectiviteit van de radiotherapie en het verminderen van de toxiciteit in het gezonde weefsel.

Het doel van deze fase is het onderzoeken van de effectiviteit van lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom (DOXIL of ThermoDox) in combinatie met conventionele RT ten opzichte van vrij toegediende radiosensitizer in combinatie met conventionele RT. Daarnaast wordt onderzocht of de lokale afgifte van een radiosensitizer voor een verminderde toxiciteit zorgt in vergelijking met een injectie van vrije radiosensitizer.

In het voorgaande onderzoeksplan, Fase 2 en 3 (met een vergunning tot 31-12-2017) is er voldoende kennis vergaard over de behandelingen en zijn er voldoende samenwerkingsverbanden opgebouwd om Fase 4 goed uit te kunnen voeren. Uit Fase 2 is geconcludeerd dat het mogelijk is om de temperatuur van de tumor te verhogen tot 42°C, zonder dat de lichaamstemperatuur verandert. In Fase 3 is de concentratie chemotherapie en dosis radiotherapie bepaald die gebruikt gaan worden in de combinatie experimenten. Alle benodigde apparatuur en kennis zijn aanwezig en beschikbaar. Hierdoor zijn fase 2 en 3 uit de dat onderzoeksplan goed verlopen.

3.3 Belang

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

Het wetenschappelijk belang van dit onderzoek is dat als de effectiviteit van lokale radiosensitizer in combinatie met radiotherapie aangetoond wordt in proefdieren. Als lokale radiosensitizer voor een verhoogde effectiviteit zorgt, kan dit verder worden onderzocht op veterinaire patiënten en uiteindelijk ook in humane patiënten.

Het maatschappelijk belang. Veel kankerpatiënten krijgen te maken met radiotherapie tijdens hun behandeling. Helaas doodt de ioniserende straling niet alleen de kankercellen, maar ook omliggende gezonde cellen. In dit project wordt een methode getest, die de precisie van radiotherapie verhoogt door middel van liposomen en hyperthermie. Op deze manier worden kankercellen beter gedood en gezonde cellen gespaard. Dit moet uiteindelijk leiden tot een langere overleving van de patiënten en een betere kwaliteit van leven.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Fase 1: trainen van benodigde technieken in de muis

In deze studie is het noodzakelijk een 100% succesvol te zijn bij het i.v. injecteren van de radiosensitizer in de naakt muis. Bij deze i.v. toediening is het niet mogelijk om de staart van het dier te verwarmen, waardoor de toediening bemoeilijkt wordt. Het verwarmen van de staart leidt tot direct vrijzetten van de DOX uit de ThermoDox.

Binnen de dierfaciliteit is er op het moment slechts één persoon aanwezig die dit uit kan voeren. Om de stabiliteit en continuïteit van de studie te waarborgen is het van belang dat meerdere personen deze techniek goed beheersen. De toedieningen kunnen ook in het weekend plaats vinden wanneer er weinig medewerkers aanwezig zijn. Vandaar dat het van belang is dat meerder personen deze techniek goed beheersen. Gedurende het eerste gedeelte van dit onderzoek kunnen we, zoals in de voorgaande studies (Fase 2 en 3), gebruik maken van de persoon die deze techniek goed beheerst, zodat fase 4 direct gestart kan worden.

Fase 4: Effectiviteit combinatie radiosensitizer en radiotherapie.

De effectiviteit van de lokale afgifte van een radiosensitizer (door middel van DOXIL en ThermoDox) in combinatie met conventionele radiotherapie wordt vergeleken met vrij toegediende radiosensitizer (DOX) in combinatie met conventionele radiotherapie. De doxorubicine concentratie en stralingsdosis die gebruikt worden in deze studie zijn in een eerdere studie bepaald. De dieren worden behandeld op het moment dat ze een tumor hebben tussen de 50 en 120 mm³, waarna het tumorvolume en het welzijn van het dier gevolgd wordt totdat er een volume wordt bereikt van 5x het volume ten opzichte van het tumor volume van bestraling of uiterlijk na 90 dagen. Daarnaast worden per groep op tijdstip 0 en een nog nader te bepalen tijdstip ($T = x$), dieren geëuthanaseerd om de radiosensitizer distributie, concentratie radiosensitizer in tumor en andere organen en toxiciteit in het normale weefsel te onderzoeken.

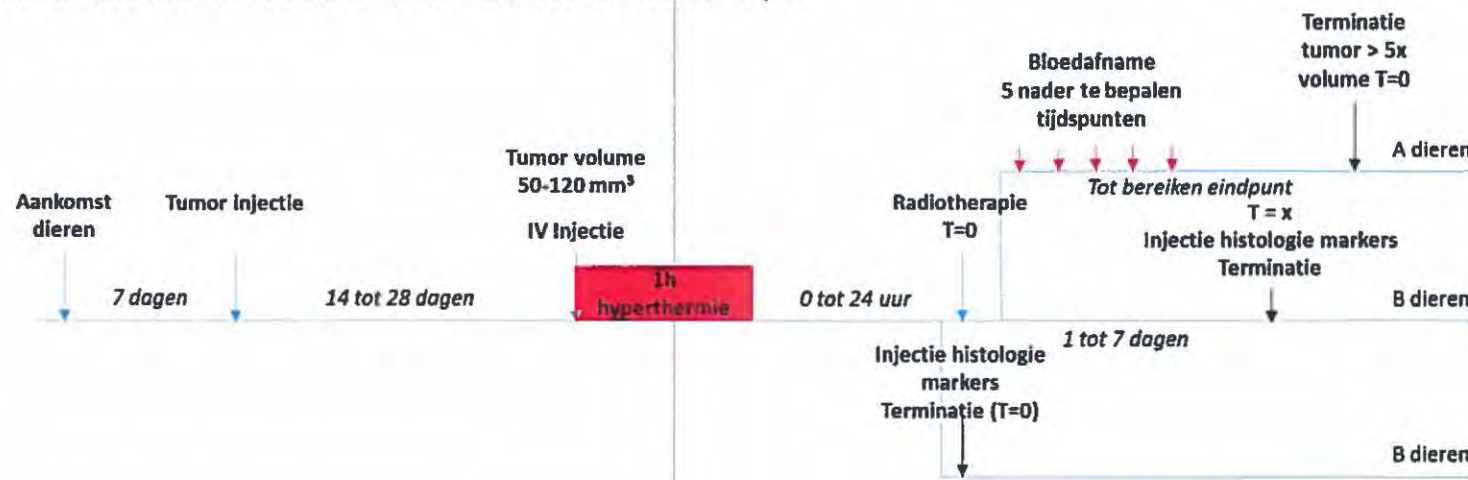
3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Fase 1: trainen van benodigde technieken in de muis.

-dieren ondergaan maximaal op 5 verschillende dagen een meerdere i.v. injecties met fysiologisch zout, zodat personen getraind kunnen worden in het

iv injecteren bij een naakte muis. De dieren zijn hierbij onder anesthesie, zodat de omstandigheden waarin de echte injecties plaatsvinden zoveel mogelijk worden nagebootst.

Fase 4: Effectiviteit combinatie radiosensitizer en radiotherapie



- Tumor implantatie onder anesthesie
- Tumor groei en regelmatige welzijn/tumor controle
- i.v. injectie van de radiosensitizer of saline in combinatie met hyperthermie of sham hyperthermie behandeling (onder anesthesie)
- radiotherapie na tijdsinterval (onder anesthesie)
- tumor follow-up na behandeling
- terminatie op 2 verschillende tijdstippen voor histologie en concentratie radiosensitizer bepalingen
- bloedafname op verschillende tijdstippen (Max 5x, met < 8 ml/kg per 2 weken)
- Terminatie als een tumor 5x het begin volume bereikt is (follow up dieren, primaire uitkomstmaat)
- Terminatie T=0 en T=x (histologie dieren, secundaire uitkomstmaat)
- Isolatie tumor en organen voor ex-vivo analyse

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.

Fase 1: trainen van benodigde technieken in de muis

In deze fase worden de onderzoekers getraind in de i.v. injectie in naakte muizen. Er is momenteel één persoon aanwezig die deze techniek goed uit kan voeren.

Om de stabiliteit en continuïteit van de experimenten te kunnen garanderen is het van belang dat er meerder personen deze techniek beheersen, zodat tijdens vakantie/ziekte de experimenten door kunnen blijven gaan. In deze fase worden 3 personen getraind in het iv injecteren bij de naakt muis.

Go/no go moment

Er is momenteel één persoon aanwezig die succesvol iv kan injecteren in de naakt muis, vandaar dat deze fase gelijktijdig kan verlopen met Fase 4. De experimenten in fase 4 zullen in nauw overleg met de persoon die het iv injecteren goed beheerst uitgevoerd worden.

Fase 4: Effectiviteit combinatie radiosensitizer en radiotherapie

In deze fase wordt onderzocht of lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom (DOXIL of ThermoDox) in combinatie met radiotherapie zorgt voor een verbeterde effectiviteit en verminderde toxiciteit ten opzichte van vrij toegediende radiosensitizer (DOX).

Fase 4 kan verder bouwen op de bevindingen uit voorgaande *in vivo* experimenten (Fase 2 en 3):

- De tumor kan op 42 °C worden gebracht met behulp van een waterbad, waarbij de lichaamstemperatuur van de muis tussen de 36 en 38 °C blijft.
- Een dosis van 2,5 mg/kg doxorubicine, DOXIL of ThermoDox in combinatie met hyperthermie en een dosis van 8 Gy zorgen beide onafhankelijk van elkaar voor een verlenging in overleving ten opzichte van controle groep (saline). Door deze suboptimale behandelingen te combineren is het mogelijk om de toegevoegde waarde van de combinatie therapieën waar te nemen.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie
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.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

11500

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

UMC Utrecht

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Volgnummer

Type dierproef

01

Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie

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.

Experimentele aanpak:

Fase 1: trainen van benodigde technieken in de muis

In deze fase worden de onderzoekers getraind in het i.v. injecteren bij de naakt muizen. Er is momenteel beperkt personeel (1 persoon op de dierfaciliteit) aanwezig die deze techniek beheerst. Om de stabiliteit en continuïteit van de experimenten te kunnen garanderen is het van belang dat er meerdere personen deze techniek beheersen, zodat tijdens vakantie of ziekte de experimenten door kunnen blijven gaan. In deze fase worden 3 personen getraind in het iv injecteren bij de naakt muis.

Go/no go moment

Er is momenteel een persoon aanwezig die iv kan injecteren in de naakt muls, vandaar dat deze fase gelijktijdig kan lopen met fase 4.

De experimenten in fase 4 zullen in nauw overleg met de persoon die het iv injecteren goed beheerst uitgevoerd worden. Om te voorkomen dat er hierdoor ongewenste variatie wordt gecreëerd, worden er (in fase 4) per keer dat er behandeld wordt 1 dier uit elke groep behandeld en al deze dieren worden behandeld door 1 persoon.

Fase 4: Effectiviteit combinatie radiosensitizer en radiotherapie

In deze fase wordt onderzocht of lokale afgifte van een radiosensitizer, doxorubicine (DOX), met behulp van liposomen (Doxil en ThermoDox) in combinatie met conventionele radiotherapie voor een verbeterde effectiviteit en een verminderde toxiciteit zorgt ten opzichte van vrij toegediende DOX en radiotherapie.

Uit voorgaand onderzoeksplan zijn de volgende conclusies getrokken, waarmee verder gegaan wordt in fase 4:

- De tumor kan op 42°C worden gebracht met behulp van een waterbad
- Een concentratie van 2,5 mg/kg doxorubicine, DOXIL of ThermoDox in combinatie met hyperthermie en een dosis van 8 Gy zorgen beide onafhankelijk van elkaar voor een verlenging in overleving ten opzichte van saline. Dit zijn beide suboptimale dosis, zodat de effectiviteit van de combinatie therapieën onderzocht kunnen worden.

Groepen die gebruikt worden:

Groep 1; fysiologisch zout (negatieve controle)

Groep 2: Radiotherapie

Groep 3: Hyperthermie

Groep 4: Radiotherapie en hyperthermie

Groep 5: DOX

Groep 6: DOX en hyperthermie

Groep 7: Doxil

Groep 8: Doxil en hyperthermie

Groep 9: ThermoDox

Groep 10: ThermoDox en hyperthermie

Groep 11: Radiotherapie en DOX

Groep 12: Radiotherapie en DOX en hyperthermie

Groep 13: Radiotherapie en DOXIL

Groep 14: Radiotherapie en DOXIL en hyperthermie

Groep 15: Radiotherapie en ThermoDox

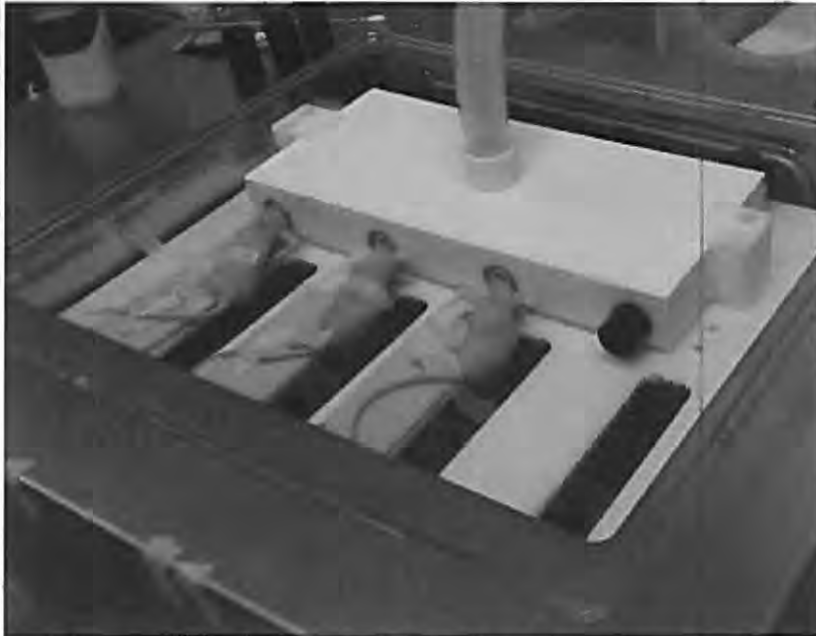
Groep 16: Radiotherapie en ThermoDox en hyperthermie

De groepen worden opgesplitst in A en B dieren:

A dieren zijn dieren voor de follow-up. Hierbij wordt de tumor gevolgd tot 5x het volume tijdens T=0 (begin volume, volume tijdens radiotherapie behandeling) of, bij volledige verdwijning van de tumor, tot 90 dagen na behandeling. (primaire uitkomstmaat)

B dieren zijn dieren voor de histologie, het bepalen van de concentratie radiosensitizer in de tumor en de rest van het lichaam en het bepalen van toxiciteit van de combinatie therapie. Deze dieren worden op 2 tijdstippen (T=0 en T=x) getermineerd. Tijdstip 0, hierbij wordt gekeken naar de concentratie radiosensitizer op het moment van bestralen, we verwachten dat dit belangrijk is voor de radiosensitizatie. En tijdstip x, waarbij vooral naar de toxiciteit

gekeken gaat worden. Dit tijdstip wordt bepaald op basis van ervaringen van externe onderzoekers in het veld. Na terminatie wordt tumor, urine, bloed en organen geïsoleerd en opgeslagen voor ex-vivo analyse.



Opstelling van de hyperthermie behandeling. Dieren liggen, onder anesthesie, op een foam-bedje om oververhitting te voorkomen. Op de foto bevindt de tumor zich bij alle dieren op de rechter achterpoot, die allemaal in het waterbad zijn geplaatst.

Primaire uitkomstmaat

De primaire uitkomstmaat is de tijd tussen behandelen (radiotherapie behandeling, $T=0$) en het bereiken van het eindpunt, 5x het tumor volume ten opzichte van $T=0$ of bij volledige verdwijning van de tumor na 90 dagen na $T=0$

Secundaire uitkomstmaat

Onder de secundaire uitkomstmaat vallen de volgende onderdelen:

- Verdeling van de doxorubicin in de tumor tijdens het moment van bestralen
- Concentratie doxorubicine in het normale weefsel tijdens de bestraling
- Histologie van de tumor na de behandeling
- Bepalen toxiciteit en in het gezonde weefsel
- Af/toename van gewicht
- Uiterlijk van de huid op de tumor (met behulp van een scoringstabel)

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.

GEBRUIKTE TUMOR

In dit onderzoek ontwikkelen de muizen een tumor op de achterpoot door subcutane injectie met cellen van de tumorcellijn HT1080 (ATCC), humane fibrosarcoom (weke delen sarcoom). In de kliniek wordt DOX gecombineerd met radiotherapie in de behandeling van weke delen sarcoma's, vandaar dat voor een sarcoom cellijn gekozen is.

De HT1080 cellijn in naakt muizen is in de literatuur bekend als een model voor weke delen sarcoom.

- Luo, L.M., et al, Anti-tumor and anti-angiogenic effect of metronomic cyclic NGR-modified liposomes containing paclitaxel. *Biomaterials*, 2013. 34(4): p: 1102-1114.
- Chiu, H.W., et al, Combination treatment with arsenic trioxide and irradiation enhances cell-killing effects in human fibrosarcoma cells *in vitro* and *in vivo* through induction of both autophagy and apoptosis, 2010, 6(3), 353-365

In dit onderzoek, zowel in fase 1 en 4, wordt de "code of practice Dierproeven in het kankeronderzoek" gehanteerd.

FREQUENTIE EN DUUR VAN DE BEHANDELING

Fase 1:

- IV injectie in de staartvene onder anesthesie, dit wordt op 5 verschillende dagen uitgevoerd, per oefenronde is de duur <30 minuten

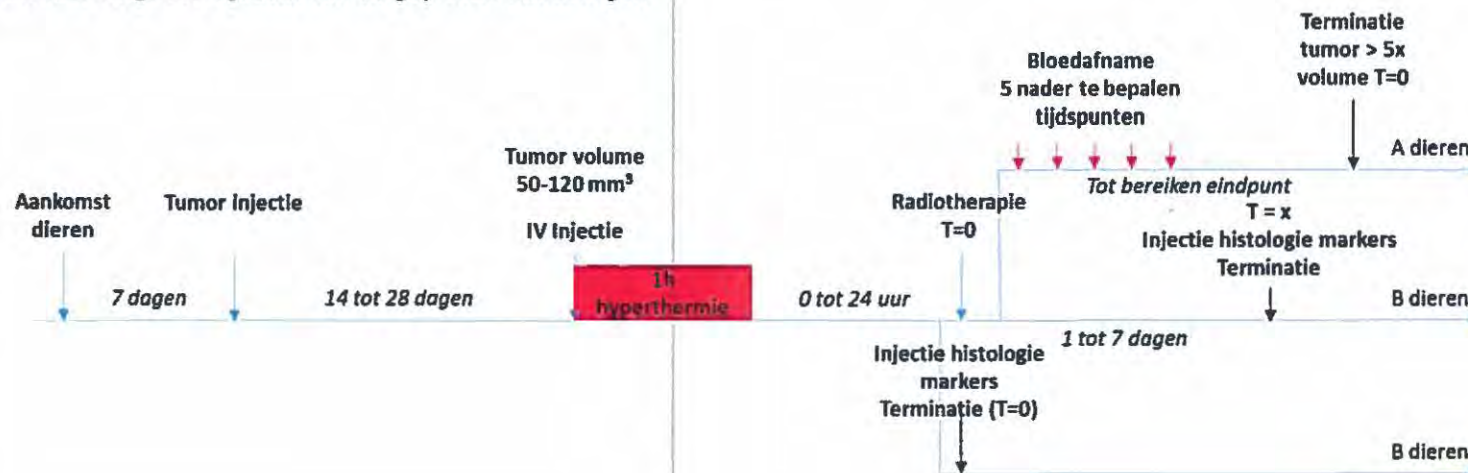
Fase 4:

De behandelde groepen kunnen worden verdeeld in A en B dieren.

A dieren zijn de dieren voor de follow-up. Hierbij wordt de tumor vervolgd tot 5x het volume vanaf het begin van de behandeling (T=0)

B dieren zijn dieren voor de histologie en toxiciteit bepalingen. Deze worden kort na behandeling getermineerd.

Hieronder volgt een tijdbalk van de geplande handelingen



A- en B-dieren:

- Implantatie tumorcellen (s.c. achterpoot)*; duur < 5 min onder anesthesie
- Controle welzijn en tumor groei; frequentie 2x per week; < 5 min
Wegen dieren; frequentie 2x per week; < 5 min
- Tumorgroei 50-120 mm³; 14 tot 28 dagen na implantatie
- Toedienen pijnstilling; frequentie 1x; duur < 5 min
- Anesthesie; frequentie 1x; duur maximaal 1,5 uur, tijdens de anesthesie vinden de volgende handelingen plaats:
 - i.v. injectie (saline; DOX, DOXIL of thermodox); frequentie 1x; duur < 5 min
 - Hyperthermie of sham hyperthermie behandeling; frequentie 1x; duur 1 uur
 - Bijkomen uit anesthesie; frequentie 1x; duur < 10 min
- Inductie anesthesie; frequentie 1x; duur < 60 min, tijdens anesthesie vinden de volgende handelingen plaats
 - Radiotherapie of sham radiotherapie behandeling; frequentie 1x; duur < 5 min
 - Bijkomen uit anesthesie; frequentie 1x; duur ca. 15 min
- Controle welzijn en tumor groei; frequentie 2-3x per week**; 5 min.
Wegen dieren; frequentie 2-3x per week**; < 5 min
- Bloedafname; frequentie maximaal 5x (houdend aan < 8 ml/kg per 2 weken); < 5 min
- Opvangen urine (spontaan); frequentie Max 5x; < 10 min

A dieren

- Terminatie; < 5 min, zodra de tumor een volume van 5x volume ten opzichte van de start van de behandeling (T=0) bereikt heeft of 90 dagen na T=0 bij volledig verdwijnen van de tumor

B-dieren:

- i.p. en i.v. injectie markers*** voor histologie; frequentie maximaal 4x; < 5 min
- Terminatie; < 5 min
- Isolatie tumoren en organen voor ex-vivo analyse.

* indien de tumor bij de eerste implantatie onverhoopt niet aanslaat kan deze procedure een tweede maal geprobeerd worden

** indien de tumor in regressie raakt t.g.v. de behandeling is 2x per week controle voldoende. Dit wordt per dier individueel beoordeeld.

*** histologie markers voor aan kleuren van bloedvaten, hypoxie en delende cellen.

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

Fase 1 (30 dieren)

Oefenen van het iv injecteren bij naakte muizen. 3 personen worden hiervoor opgeleid, zodat er altijd personen aanwezig zijn als er i.v. geïnjecteerd moet worden. Per persoon schatten we dat hier 10 dieren voor nodig zijn, dit aantal is bepaald in overleg met de ervaringsdeskundig.

Fase 4 (440 dieren)

GROEPSGROOTTE

A dieren (dieren voor de follow up)

Uit het vorige onderzoeksplan zijn de gemiddelde en standaarddeviatie voor de duur van het bereiken van 5x het volume ten opzichte van de start van de behandeling van de radiotherapie, DOX, en DOXIL als een enkele behandeling en thermodox in combinatie met hyperthermie bepaald.

Verder zijn de volgende aannames gedaan voor het bepalen van de overleving bij de combinatie therapieën:

- Hyperthermie heeft geen invloed op de tumorgroei
- Overleving van combinatie therapieën zijn bepaald door de verlenging in overlevingsduur ten opzichte van dieren van de saline behandeling bij elkaar op te tellen.
- ThermoDox zonder hyperthermie geeft gelijke overleving als de saline behandelde dieren.

Statistische analyse en berekenen van de groepsgrootte:

Als primaire test wordt een ANOVA gebruikt met de t-test als posthoc test.

We willen in ieder geval voor de volgende groepen significante verschillen zien:

1. (saline) – (Radiotherapie)
2. (Radiotherapie) – (Radiotherapie + hyperthermie + ThermoDox)
3. (Radiotherapie + hyperthermie) – (Radiotherapie + hyperthermie + ThermoDox)
4. (Radiotherapie + ThermoDox) – (Radiotherapie + hyperthermie + ThermoDox)

In deze experimenten willen we 4 vergelijkingen testen, zie hierboven. Doordat de kans op een vals positieve uitkomst groter wordt als er meerdere groepen worden vergeleken, moet de Bonferroni correctie toegepast worden. Als we van 1 test uitgegaan zouden zijn, is een α van 0.05 voldoende. Doordat we nu 4 groepen vergelijken wordt de nieuwe α' (0.05 (oude α)/4 (vergelijkingen)) $= 0.01$.

Het kleinste verschil dat we statistisch willen testen is het verschil van 9,1 dagen met een standaarddeviatie voor radiotherapie 6,5 en een verwachte standaard deviatie voor de combinatie therapieën 8,1. Met een α' van 0.01 en een power van 0.8 zorgt dit voor een groepsgrootte van **15 dieren per groep voor follow up**.

B dieren (dieren voor histologie en toxiciteit bepaling)

Dieren worden gebruikt voor het bepalen voor het onderzoeken van de verdeling en concentratie van de radiosensitizer in de tumor en in andere organen en de toxiciteit als gevolg van de behandeling. Dit wordt op 2 tijdstippen gemeten, tijdens bestralen en op een nog nader te bepalen tijdstip. **2 tijdstippen en per tijdstip hebben we 3 dieren nodig.**

UITVAL

We verwachten dat er **uitval** ontstaat in de groepen om de volgende redenen:

- Openbarsten tumor

- Gewichtsverlies
- Het niet kunnen injecteren in de staartvene

Het verwachte uitvalspercentage en het aantal dieren per groep inclusief uitval is:

Groep	A dieren (follow up)	B dieren (tijdstip T = 0)	B dieren (tijdstip T = x)
Saline	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
Radiotherapie	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
Hyperthermie	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
Radiotherapie + hyperthermie	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
Dox	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
DOX + hyperthermie	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
Doxil	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
Doxil + hyperthermie	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
ThermoDox	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
ThermoDox + hyperthermie	5% uitval (16 dieren)	0% uitval (3 dieren)	5% uitval (4 dieren)
Radiotherapie + dox	10% uitval (17 dieren)	0% uitval (3 dieren)	10% uitval (4 dieren)
Radiotherapie + dox + hyperthermie	10% uitval (17 dieren)	0% uitval (3 dieren)	10% uitval (4 dieren)
Radiotherapie + DOXIL	10% uitval (17 dieren)	0% uitval (3 dieren)	10% uitval (4 dieren)
Radiotherapie + DOXIL + hyperthermie	10% uitval (17 dieren)	0% uitval (3 dieren)	10% uitval (4 dieren)
Radiotherapie + ThermoDox	10% uitval (17 dieren)	0% uitval (3 dieren)	10% uitval (4 dieren)
Radiotherapie + ThermoDox + hyperthermie	10% uitval (17 dieren)	0% uitval (3 dieren)	10% uitval (4 dieren)

Het totale aantal dieren inclusief uitval komt dan uit op 262 dieren voor de follow up (A dieren) en 112 dieren voor de histologie (B dieren)

EXCLUSIE CRITERIA

We verwachten dat 15% van de tumoren aan een van de exclusie criteria voldoet. Dit kan zijn:

- Geen tumoropkomst op de achterpoot. Er wordt subcutaan geïnjecteerd, waardoor de tumor soms in de flank gaat groeien en dus niet op achterpoot. Bij hyperthermie en radiotherapie is het van belang dat de tumor op de achterpoot zit, zodat de rest van het lichaam zo min mogelijk opgewarmd of bestraald wordt. Om spreiding in de groepen te voorkomen is het van belang dat de tumoren in alle groepen op (zo veel mogelijk) dezelfde plek zitten, waardoor de tumoren die niet op de juiste plek zitten niet in andere groepen gebruikt kunnen worden. Hierdoor zou anders een bias verkregen kunnen worden.
- De opkomst van de tumor is minder dan 14 dagen of meer dan 28 dagen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat de tumor dan niet voldoet aan het 'normale' groeipatroon van deze tumor als deze tussen de 14 en 28 dagen opkomt.

Inclusief exclusie criteria komen we dan uit op $(262+112)/(1-0.15) = 440$ dieren

Fase 1 en 4 samen komt dit op $(30 + 440) = 470$ dieren

B. De dieren

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

In deze studie is gekozen voor naakt muizen, omdat hierin de humane tumorcellijn HT1080 (weke-dele sarcoom) kan groeien, een uit de literatuur bekend model voor weke delen sarcoom. In de kliniek worden weke-delen sarcoma's behandeld met onder andere een combinatie van DOX (als radiosensitizer) en radiotherapie. Het doel van deze experimenten is een proof of concept van lokale afgifte van een radiosensitizer. Het mechanisme van lokale afgifte van een radiosensitizer is gelijk en transleerbaar tussen de proefdieren en (veterinaire) patiënten.

De dieren die in fase 1 gebruikt worden, zijn ook naakte muizen. Volgens de ervaringsdeskundige op het gebied van iv injecteren bij de 'gewone' en naakt muis is er een groot verschil tussen het iv injecteren in 'gewone' en naakt muizen. Het iv injecteren in de naakt muis is veel lastiger, onder andere omdat de vaten veel dunner zijn. Vandaar dat in fase 1 ook naakte muizen gebruikt worden.

Er wordt gebruikt gemaakt van CanN.Cg-Fox1 nu/crl (code 194) naakt-muizen; herkomst geregistreerde fok- of afleveringsbedrijf in de EU; met een gewicht tussen de 17 en 20 gram. Bij dit gewicht verwachten we dat de dieren behandeling goed kunnen ondergaan, zoals uit Fase 3 is gebleken. In Fase 1 gebruiken we dezelfde dieren als in Fase 4, zodat de trainingsomstandigheden en de werkelijke omstandigheden zo veel mogelijk overeen komen. In dit protocol voor Fase 1 zijn 30 dieren (iv injectie oefenen) en voor Fase 4 zijn 440 dieren (effect van lokale radiosensitizer afgifte) nodig.

Er is gekozen voor vrouwelijke dieren, omdat de achterpoot gedurende 1 uur in een waterbad wordt geplaatst, in fase 4. Bij mannelijke dieren zouden de testes mogelijk te dicht bij of in het water komen te liggen wat voor een flinke opwarming van de testis zorgt. In geval van ThermoDox, waarbij de radiosensitizer wordt afgegeven bij een verhoogde temperatuur, kan dit voor een hoge dosis DOX in de testes zorgen. Daarnaast wordt de lichaamstemperatuur verhoogd als de testis te warm worden, doordat dit een relatief groot deel van het muizenlichaam betreft. Dit willen wij voorkomen. In fase 1 wordt, net als in fase 4, gebruik gemaakt van vrouwelijke dieren. Doordat het al zeer lastig is, volgens de ervaringsdeskundige om deze dieren iv te injecteren, willen we de trainingsomstandigheden zo veel mogelijk gelijk houden met fase 4.

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.

In Fase 4 is het van belang dat er naïve dieren gebruikt worden, in verband met reactie op chemotherapie en radiotherapie. Vandaar dat in Fase 1 ook naïve dieren gebruikt worden, zodat de oefen omstandigheden zo veel mogelijk overeen komen met de i.v. injecties in Fase 4.

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

Voorafgaande aan dit onderzoeksprotocol is de combinatie van doxorubicine/ThermoDox, hyperthermie en radiotherapie *in vitro* onderzocht (artikel in voorbereiding). Hierbij is het concept van de lokale afgifte van radiosensitizer in combinatie van radiotherapie *in vitro* getest. De beperking hierbij is echter dat hyperthermie naast een effect op cellen ook een effect heeft op de organen, waaronder het verhogen van de bloed toevoer, zuurstof in de tumor en permeabiliteit in de vaten. Dit kan *in vitro* niet onderzocht worden. Daarnaast is het *in vitro* niet mogelijk om toxiciteit in normaal weefsel te onderzoeken. Vandaar deze *in vivo* studie.

Vermindering:

Door statistische berekeningen worden er voldoende, maar niet teveel, dieren per groep meegenomen, zodat deze voldoende zou zijn om goede conclusies te kunnen trekken.

Er wordt gewerkt met het "randomized block design" wat leidt tot een grotere accuraatheid. Een blok wordt gezien als een bestelling dieren. Deze dieren van een bestelling worden geïnjecteerd met tumorcellen. Op het moment van behandeling worden de tumoren die aan de exclusie criteria voldoen eruit gehaald. De rest wordt verdeeld via randomized block design. Alle dieren uit 1 bestelling worden geïnjecteerd door 1 persoon.

Daarnaast hebben we reeds in fase 2 de verwarmingsmethode (i.e. waterbad op 42°C) geoptimaliseerd. Daarom verwachten we zeer beperkte tot geen uitval van dieren door technische problemen bij het uitvoeren van de hyperthermie experimenten. Uit de resultaten van fase 3, ook reeds uitgevoerd, is geconcludeerd dat 2,5 mg/kg doxorubicine, DOXIL of ThermoDox en een bestralingsdosis van 8 Gy door de dieren goed wordt verdragen. De tumor verdwijnt niet volledig bij deze behandelingen, zodat het mogelijk is om het combinatie effect van chemotherapie en radiotherapie te onderzoeken.

Verfijning:

De dieren worden regelmatig gecontroleerd en als dat nodig is, wordt pijnstilling toegepast. Er worden dieren met een gewicht tussen de 17 en 20 gram gebruikt, waarvan we weten dat deze de behandeling goed aankunnen, data uit Fase 3

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.

Gevoelige, pijnlijke en/of stressvolle handelingen worden zoveel mogelijk uitgevoerd onder anesthesie. Daarnaast worden de dieren regelmatig gecontroleerd en getraind op fixatie. Hierdoor wordt welzijnscontrole niet als stressvol meer ervaren.

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.
n.v.t.

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.

Verwachte pijnlijke handelingen worden onder anesthesie uitgevoerd. Mocht blijken dat de dieren toch pijn ondervinden, dan wordt een geschikte pijnstiller gegeven (e.g. NSAID)

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Fase 1

-Bloeduitstortingen in de staart vanwege iv injectie

Fase 4

1. Tumor groei
2. Gewichtsafname t.g.v. behandeling
3. Aantasting van de huid over de tumor of mogelijk open gaan van de tumor
4. Ulcereren van de tumor t.g.v. tumor groei
5. Zwelling en/of roodheid van de poot t.g.v. hyperthermie behandeling

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Fase 1

-Bij de trainingen worden de dieren per keer meerdere keren iv geïnjecteerd. Dit gaat nog wel eens mis, waardoor er bloeduitstortingen kunnen ontstaan.

Fase 4

1. Vanwege injectie met HT1080 cellen zal er een tumor gaan groeien op de achterpoot

2. Bijwerking van radiosensitizer en radiotherapie
3. Tumorgroei in combinatie met bijwerkingen van radiosensitizer en radiotherapie
4. Druk t.g.v. tumorgroei eventueel in combinatie met radiotherapie
5. De warmte van het water in combinatie met bijwerkingen van radiosensitizer en radiotherapie

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

Fase 1

- De training wordt gegeven door een ervaringsdeskundige in het iv injecteren, waardoor het ongerief zo klein mogelijk blijft. De dieren worden na iv injectie goed in de gaten gehouden.

Fase 4

1. Dieren worden minimaal 2 tot 3 keer per week (afhankelijk van voor of na de behandeling) gecontroleerd
2. De dieren krijgen standaard een week vanaf behandeling weekbrokken (geweekte brokken) in het verblijf ter ondersteuning van hun eetlust. Dit heeft in de vorige fase goed gewerkt om het gewichtsverlies te verminderen.
3. Goed blijven controleren; mogelijk huid vettig houden met vaseline. Bij blijvend open gaan van de tumor wordt het Humane Eind Punt (HEP) bereikt
4. Idem punt 2
5. Door de poot tijdens de hyperthermie behandeling in te smeren met vaseline wordt de directe blootstelling van de huid aan het water zo veel mogelijk beperkt, terwijl de temperatuur in de tumor hier geen hinder aan ondervindt. De zwelling en/of roodheid trekt na een paar dagen weg. Dit vindt plaats gedurende de eerste week na behandeling, gedurende deze periode hebben de dieren weekbrokken waardoor ze niet hoeven te klimmen in het rooster, zoals al bij punt 1 aangegeven.

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.

Fase 1

Geen verwachte omstandigheden waarbij het HEP geïnduceerd wordt.

Fase 4

Omstandigheden waarbij het HEP geïnduceerd wordt:

- Tumor volume > 1000 mm³
- > 15% gewichtsverlies binnen 2-3 dagen OF > 20% gewichtsverlies ten opzichte van dag 0
- Verminderde activiteit bij controle > 1 dag
- Ulceratie van de tumor, waarbij de tumor niet 'schoon' open gaat en niet snel dicht trekt

-Klinische verschijnselen met ernstig ongerief. (niet waargenomen in Fase 3)

-Metastaseren van de tumor (niet waargenomen in Fase 3)

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

We verwachten dat 5% tot 10% van de dieren, afhankelijk van de groep, HEP zal bereiken.
Hier is in de aanvraag van het aantal dieren rekening mee gehouden.

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.

Fase 1. Matig ongerief. Tijdens het oefenen van de iv injecties worden de dieren onder anesthesie gebracht om Fase 4 zo goed mogelijk te simuleren. De oefenperiodes, onder anesthesie, zullen maximaal 5 keer per dier plaatsvinden.

Fase 4. Matig ongerief. Dieren worden geïnjecteerd met tumor cellen, waardoor er een tumor gaat groeien. Daarnaast gaan de dieren verschillende malen onder anesthesie, waarvan ze moeten herstellen. Dieren ondervinden ongerief vanwege tumor groei, behandelingen met radiosensitizer en bloedafname.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☒ Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

Fase 1

Dieren worden niet gedood en kunnen worden hergebruikt

Fase 4

Tumor en organen worden gebruikt voor ex-vivo analyse

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



A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2017.II.504.043
2. Titel van het project : Lokale radiosensitizer afgifte met behulp van hyperthermie
3. Titel van de NTS : Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie

4. Type aanvraag:

- ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
☐ wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC	: DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon	: 088 – 75 59 247
Emailadres contactpersoon	: dec-utrecht@umcutrecht.nl

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

- ☒ ontvangen door DEC: 04-10-2017
☐ aanvraag compleet:
☒ in vergadering besproken: 25-10-2017
☐ anderszins behandeld:
☒ termijnonderbreking(en) van / tot : 09-11-2017/13-11-2017
☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
☐ aanpassing aanvraag:
☒ advies aan CCD: 29-11-2017

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum: 25-10-2017
- Plaats: Utrecht
- Aantal aanwezige DEC-leden: 7
- Aanwezige (namens) aanvrager: verantwoordelijk onderzoeker + art. 9 onderzoeker
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden:
 - In de aanvraag schrijven onderzoekers dat de translatiekracht niet groot is, want hyperthermie bij de patiënt wordt straks op een andere manier (HIFU) bewerkstelligd dan dat bij de dieren gebeurt. De DEC vraagt zich af of de onderzoeker na dit project direct naar de patiënt gaan of dat nog weer dierproeven nodig zijn? Hoe ziet het vervolg eruit? *Onderzoekers geven aan na dit project naar de dierenkliniek te gaan als tussenstap. Daar zijn veel honden (veterinaire patiënten) die dit type sarcoma's hebben. Chemoradiotherapie wordt in de veterinaire praktijk al toegepast, wat nieuw zou zijn is het lokaal positioneren van de*

radiosensitizer. Dat de radiosensitizer werkt is al bekend. Het gaat echt om het lokaal deponeren van de radiosensitizer en daardoor het verminderen van de toxiciteit.

Er is reeds contact met de veterinaire artsen en radiotherapie.

Onderzoekers gaan dus van proof-of-principle naar echte patiënten, met de hond als translatie slag.

- Verwachten onderzoekers dat de manier van verwarmen van de tumor niet uitmaakt?
Dat klopt, volgens onderzoekers gaat het om het verwarmen, niet om de manier waarop. In de veterinaire praktijk zal gebruik worden gemaakt van HIFU, iets wat bij de muizen praktisch niet mogelijk is omdat zij te klein zijn.
- De DEC legt uit dat het berekend aantal dieren voor fase 4 niet lijkt te kloppen.
Onderzoekers geven in de aanvraag aan dat er 20% uitval is, maar feitelijk wordt bedoeld dat 20% valt onder een exclusie criterium namelijk een niet goed gegroeide of geplaatste tumor, een hele andere benadering. Wanneer bijvoorbeeld, 400 dieren nodig zijn en de verwachting is dat 15% (20% - 5% humaan eindpunt) in het exclusie criterium valt, dan houdt je X aantal dieren over die vervolgens via een randomized blockdesign verdeeld worden over de behandelgroepen. Daarmee wordt het extra aantal dieren dat je nodig hebt verkleind en kan het overall percentage van dieren die niet gebruikt kunnen worden naar beneden worden gebracht.
De DEC geeft tevens aan bij de humane eindpunten te missen dat tumoren gaan ulcereren of groter groeien, etc. en dat volgens de code of practice code of practice een uitvalspercentage is berekend (5%). Dit percentage kunnen onderzoekers eventueel nog nader specificeren omdat de verwachting is dat in de combinatie behandelde groep de therapie aanslaat en in de saline behandelde groep behandelgroep wel hogere uitval is.
- Voor het trainen van medewerkers wordt fysiologisch zout gebruikt, terwijl de moeilijkheid zit in het toedienen van een visceuse stof.
Onderzoekers geven aan dat een visceuse stof maar één keer kan worden toegediend. Om het aantal dieren te besparen is gekozen voor fysiologisch zout. Het trainen start met het zoeken van het vat en dan iets injecteren. Onderzoekers geven bovendien aan dat de chemotherapeutica vooral visceus waren bij een hoge dosis en dat is in dit onderzoek niet aan de orde.
- Onderzoekers vragen het project aan voor de duur van 4 jaar. Dat lijkt wat aan de lange kant. Kunt u dit nader toelichten?
Wanneer 2 personen fulltime aan het project zouden werken is het haalbaar in een jaar, maar er is slechts één persoon die niet fulltime aan het project kan werken en 4 jaar lijkt haalbaar, zonder dat verlenging hoeft te worden aangevraagd.
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 09-11-2017
- Datum antwoord: 13-11-2017
- Gestelde vragen en antwoorden:

Projectvoorstel

- Algemeen: U vraagt het project aan voor de duur van 4 jaar. Dat lijkt wat aan de lange kant. Kunt u dit nader toelichten?
Zoals aangegeven in de bijlage worden er 440 dieren behandeld. Uit ervaring uit een vorig onderzoeksplan is gebleken dat het haalbaar is om 20 dieren per maand te behandelen, in totaal 22 maanden, als er continu doorgegaan wordt met het onderzoek. Met toevoeging van vakanties en overleving van follow up dieren komen we uit op 2,5 jaar. In de tussentijd zal het project overgedragen worden aan een nieuwe PhD student. We verwachten dat hier maximaal 1,5 jaar voor nodig is. Vandaar dat we een aanvraag indienen voor 4 jaar. Dit is opgenomen in achtergrond algemene projectbeschrijving.
- 3.1 Achtergrond: De DEC adviseert u aan om in de achtergrond al aan te geven dat dit al een reeds lopend project is en dat het niet afgerond kan worden voor 1 januari 2018, wat er reeds aan onderzoek gedaan is, en dat het gaat om een afsluitend/proof-of-principle project, waarbij u vervolgens een brug maakt naar de kliniek (translatie), met de hond als translatie slag.
De achtergrond is aangepast.
- 3.2 Doel: Het uiteindelijke doel en belang voor de patiënt wordt te weinig uitgelegd. Graag nog aandacht aan besteden.
Het uiteindelijke doel en belang voor de patiënt is nader verwerkt bij 3.3 Belang.
- 3.3 Belang: Hier graag ook duidelijker aangeven wat het belang van dit onderzoek is voor de toekomst; voor verder onderzoek.
Bij 3.3 Belang is het wetenschappelijke belang opgenomen.
- 3.4 Onderzoeksstrategie: Voor wat betreft de training zegt u dat de viscositeit van de DOXIL en ThermoDox toediening nog moeilijker maakt, maar u oefent vervolgens met fysiologisch zout. Tijdens het gesprek heeft u aangegeven dat de chemotherapeutica viskeus waren bij een hoge dosis en dat dat in deze aanvraag niet aan de orde is. Graag verhelderen.
De viscositeit van DOXIL en ThermoDox waren inderdaad een probleem bij de hogere concentraties (5 en 10 mg/kg). Tijdens fase 4 wordt gebruik gemaakt van een concentratie van 2,5 mg/kg, waardoor de problemen met viscositeit geen rol meer spelen. Om verwarring te voorkomen is dit nu weggehaald.
- 3.4 Onderzoeksstrategie: Ook geeft u aan dat één persoon alvast begint met het injecteren en later (wanneer meer personen bekwaam zijn) meerdere personen de muizen injecteren. Wordt hiermee geen ongewenste variatie gecreëerd? Is het niet beter om te wachten totdat alle personen getraind zijn en dan random in te zetten? Graag uw visie.
Op het moment is er één persoon aanwezig die iv injecties in de naakte muis goed kan uitvoeren. Wij blijven van mening dat de experimenten uit Fase 4 gestart kunnen worden,

doordat er een persoon aanwezig is die iv injecties kan toedienen. Om te voorkomen dat er hierdoor ongewenste variatie wordt gecreëerd, worden er (in fase 4) per bestelling 1 dier uit elke groep behandeld en alle dieren van 1 bestelling worden behandeld door 1 persoon. Dit is aangepast/opgenomen in zowel het projectvoorstel als in de bijlage.

Bijlage 1

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Als secundaire uitkomstmaat wordt genoemd de welzijnseffecten van de behandeling. Het is de DEC niet duidelijk wat u hiermee bedoelt. Graag nader duiden en aangeven hoe dat gemeten wordt.
Onder welzijnseffecten die bekeken worden als secundaire uitkomstmaat vallen gewichtsverlies of gewichtstoename, uiterlijk van de huid over de tumor (deze wordt beoordeeld aan de hand van een scoringstabel uit de literatuur). Dit is aangepast/opgenomen in de bijlage.
- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Ten behoeve van de helderheid zou de DEC het op prijs stellen als u een tijdbalk opneemt in de bijlage.
In de experimentele aanpak is een tijdbalk opgenomen. Behandelingen en geschatte tijdsduur is hierin opgenomen.
- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Bij de berekening van het aantal dieren schrijft u: Aantal dieren per groep zonder uitval is $(15 + 3 \text{ histo } (t=0) + 3 \text{ histo } (t=x)) = 21$ dieren per groep. Het is de DEC niet helder wat u met 3 histo bedoelt.
Voor de secundaire parameters wordt gekeken naar toxiciteit en concentratie radiosensitizer (doxorubicine) in de tumor en in de organen. De concentratie radiosensitizer in de tumor en toxiciteit aan de huid kunnen alleen bepaald worden door de dieren te termineren. Dit wordt gedaan op 2 tijdstippen, $T=0$ en $T=x$. Per tijdstip worden 3 dieren gebruikt. Vandaar de '3 histo' per tijdstip. Dit is aangepast/verheldert in het huidige protocol.
- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Het is niet helder waar de alpha van 0,01 op is gebaseerd. Graag toelichten.
De alpha 0.01 voor de statistische berekeningen is gebaseerd op dat er meerdere testen gedaan worden met deze data. Bij een enkele test is een alpha van 0.05 voldoende. Doordat we in dit experiment 4 testen uit willen voeren, moet een Bonfferoni correctie toegepast worden, waardoor er een nieuwe alpha (oude alpha (0.05)/aantal vergelijkingen 4 =) 0.01 wordt.
- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters:
 - De DEC vraagt zich af of de tumor niet in alle dieren kan worden geënt, en de dieren pas worden verdeeld nadat is vastgesteld of de groei voldoet aan de gestelde eis. Dit scheelt veel dieren.
 - U geeft aan dat er 20% uitval is, maar feitelijk bedoelt u dat 20% valt onder een exclusie criterium namelijk een niet goed gegroeide of geplaatste tumor, een hele andere benadering. Wanneer u, bijvoorbeeld, 400 dieren nodig heeft, daar verwacht u van dat 15% (20% - 5% humaan eindpunt) in het exclusie criterium valt, dan houdt je X aantal dieren over die vervolgens via een randomized blockdesign verdeeld worden

over de behandelgroepen. Daarmee verklein je het aantal extra dieren dat je nodig hebt en kan het overall percentage van dieren die je niet kunt gebruiken naar beneden gebracht worden.

Het is zeker de bedoeling om op de manier te werk te gaan zoals u aangeeft. De berekeningen zijn aangepast. Per groep is eerst de verwachte uitval berekend. We verwachten dat dit afhangt van de behandeling. We verwachten in de combinatie groepen meer problemen, vooral doordat de doxorubicine niet alleen een effect heeft op de tumor, maar ook op het normale weefsel. Daarna is er een exclusie criteria, van 15%, berekend. We komen met de nieuwe berekening uit op 440 dieren voor Fase 4. Dit is aangepast/verwerkt onder de statistische berekening.

- D. Vervanging, vermindering en verfijning: U schrijft: Er wordt gewerkt met het "randomized block design" wat leidt tot een grotere accuraatheid. Als blok wordt gezien een bestelling van een groep dieren. Deze zin lijkt niet te kloppen. Graag nogmaals aandacht aan schenken.
- *Groep is in de zin 'Als blok wordt gezien een bestelling van een groep dieren' ongelukkig gekozen. Hiermee wordt bedoeld dat als blok, in het randomized block design, een bestelling dieren wordt gezien. Deze dieren uit de bestelling worden allemaal subcutaan geïnjecteerd met cellen waardoor er een tumor ontstaat. Zoals hierboven aangegeven verwachten we dat 15% van deze dieren aan een exclusie criteria voldoet. Na de dieren die aan het exclusie criteria eruit gehaald te hebben, wordt de rest verdeeld over de verschillende groepen voor de specifieke behandeling. Dit is aangepast/verwerkt in het huidige protocol.*
- H. Pijn en pijnbestrijding: Bij A (Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters) zegt u dat: "Gedurende het voorgaande onderzoeksplan hebben we ervaren dat niet alle tumoren aanslaan of op een onbehandelbare plaats zitten." Bij H zegt u vervolgens dat tumoren op andere plekken in het lichaam niet eerder zijn gezien. Dit lijkt een discrepantie, graag verhelderen en aangeven op wat voor soort plekken u tumoren tegenkwam.

In de aanpak en primaire uitkomstparameters wordt inderdaad aangegeven dat we uit ervaring weten dat niet allen tumoren aanslaan of op een onbehandelbare plaats opkomen. Hier wordt echter niet mee bedoeld dat de tumor metastaseert, maar doordat de cellen subcutaan geïnjecteerd worden in de achterpoot, verschijnen sommige tumoren in de flank in plaats van de achterpoot. Het metastaseren van de tumoren hebben we tot nu toe nog niet meegemaakt. Dit is aangepast en verduidelijkt in het huidige protocol.

- J. Humane eindpunten: Bij de humane eindpunten wordt niet genoemd dat tumoren gaan ulcereren of groter groeien, etc. en dat volgens de code of practice een uitvalspercentage is berekend (5%). Eventueel kunt u dit percentage nog nader specificeren omdat de verwachting is dat in de combi behandelde groep de therapie aanslaat en in de saline behandelde groep behandelgroep wel uitval is.
De uitvalspercentages zijn onder A. Experimentele aanpak, statistische bepalingen nader toegelicht. Toegevoegd aan humane eindpunten is het groeien en ulcereren van de tumor.

- K. Classificatie van ongerief: Het ongerief als gevolg van de tumor wordt hier niet genoemd. Graag alsnog opnemen.
Bij classificatie van ongerief is het groeien van een tumor toegevoegd.
- K. Classificatie van ongerief: Het ongerief voor de trainingsdieren dient nog te worden aangegeven.
Bij classificatie van ongerief is het ongerief van de trainingsdieren toegevoegd.
- L. Wijze van doden: Graag ook aangeven wat er met de trainingsdieren gebeurt na afloop van de training.
Na overleg met de IvD is nu opgenomen dat de trainingsdieren na afloop hergebruikt kunnen worden. Voor de dieren uit fase 4 verandert verder niets.

Niet Technische Samenvatting

- Algemeen: De DEC verzoekt u de NTS opnieuw te schrijven en daarbij goed te letten op taalgebruik. Een zin als: Er wordt vooraf nagedacht over de experimenten lijkt een open deur en kunt u beter vermijden. En een term als chemotherapeuticum/chemotherapeutica is te ingewikkeld voor een leek en dient u te vermijden of uit te leggen.
De NTS is volledig herschreven.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Advies expert:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. Het betreft de laatste fase van een project dat eerder door de DEC is beoordeeld en goedgekeurd en niet kon worden afgerond vóór 1 januari 2018.
Radiotherapie, alleen of in combinatie met een andere modaliteit zoals chemotherapie of chirurgie, is een veel gebruikte therapie voor het behandelen van lokale tumoren. De effectiviteit van radiotherapie kan worden verhoogd door deze te combineren met een radiosensitizer, chemoradiotherapie genoemd. Chemoradiotherapie zorgt echter ook voor veel bijwerkingen,

omdat veelal radiosensitizers gebruikt worden die, naast het effect van een verhoogde gevoeligheid voor ioniserende straling, zelf ook een direct toxisch effect hebben op de cellen en daarmee gezond weefsel aantasten. De toxiciteit van de radiosensitizer kan worden verminderd door gebruik te maken van conventionele liposomen of temperatuur gevoelige liposomen. Het gebruik van liposomen heeft (vermoedelijk) niet alleen effect op de toxiciteit, maar ook op de effectiviteit van de therapie doordat zij zorgen voor ophoping van de radiosensitizers in de tumor. De radiosensitizer die in deze studie gebruikt zal worden is doxorubicine (DOX). Wanneer conventionele liposomen worden geladen met DOX (DOXIL) wordt ophoping in de tumor veroorzaakt door het Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect. Wanneer temperatuur gevoelige liposomen worden geladen met DOX (ThermoDox), komt de DOX relatief snel vrij in de tumor wanneer deze verwarmd wordt tot een temperatuur boven de 40 °C.

Voorgaand in vivo onderzoek heeft al laten zien dat een verhoogde concentratie DOX, DOXIL of ThermoDox zorgt voor een verminderde tumorgroei met als gevolg een toename in overleving van de dieren. Daarnaast zorgen DOXIL en ThermoDox voor een verbeterde overleving ten opzichte van DOX. De toxiciteit is in dit onderzoek niet meegenomen. In dit project willen onderzoekers het concept van lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom verder onderzoeken om de effectiviteit van radiotherapie te verbeteren en de toxiciteit in het gezonde weefsel te verminderen. De aanvraag komt qua structuur overeen met voorbeeld 4B uit de handreiking 'Handreiking Invulling Definitie Project'.

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstellingen.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is onderzoek doen naar 1) de effectiviteit van lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom (DOXIL en ThermoDox) in combinatie met radiotherapie ten opzichte van vrij toegediende radiosensitizer (DOX) in combinatie met conventionele radiotherapie en 2) vermindering van de toxiciteit van lokale afgifte t.o.v. vrije toediening van een radiosensitizer. Het uiteindelijke doel van het project is het vinden van de meest optimale behandelmethode teneinde de overlevingskansen van patiënten met een tumor te vergroten. Het voorliggende project is een proof-of-principle studie. Hierna zullen onderzoekers naar de veterinaire kliniek gaan als tussenstap voor toepassing in de humane patiënt. In de veterinaire kliniek zijn veel honden die het type sarcoma's hebben dat met chemoradiotherapie behandeld kan worden. Chemoradiotherapie wordt in de veterinaire praktijk al toegepast, wat nieuw zou zijn is het lokaal positioneren van de radiosensitizer. Dat de radiosensitizer werkt is overigens al bekend. Het gaat echt om het lokaal deponeren van de radiosensitizer en daardoor het verminderen van de toxiciteit. Er is reeds contact met de veterinaire artsen en radiotherapie. De DEC is van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel. Het directe doel is gerechtvaardigd in de context van dit onderzoeksveld.

5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren, het onderzoeksveld en patiënten die behandeld moeten worden voor een lokale tumor. Voor de proefdieren geldt dat hun welzijn en integriteit worden aangetast. De dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren stress ondervinden en pijn ervaren. De dieren zullen in het kader van het onderzoek gedood worden. Voor de proefdieren zijn er dus slechts negatieve morele waarden als welzijn (stress) en rechtvaardigheid (intrinsieke waarde en integriteit) in het geding. De morele waarden die voor de patiënten worden bevorderd zijn: welzijn (kwaliteit van leven) en rechtvaardigheid (beschikbaarheid van een doeltreffende therapeutische behandelingen). Veel kankerpatiënten krijgen te maken met radiotherapie tijdens hun behandeling. De ioniserende straling doodt echter niet alleen de kankercellen, maar ook de omliggende gezonde cellen. In dit project wordt een methode getest, die de precisie van radiotherapie verhoogt door middel van liposomen en hyperthermie. Op deze manier worden kankercellen beter gedood en gezonde cellen gespaard, wat ertoe kan leiden dat kankerpatiënten langer (ziektevrij) kunnen overleven en/of de kwaliteit van leven van kankerpatiënten aanzienlijk wordt bevorderd. Voor het onderzoeksveld geldt dat het publiceren van belangrijke nieuwe wetenschappelijke inzichten resulteert in een goede wetenschappelijke reputatie, hetgeen vaak de sleutel is voor het verkrijgen van nieuwe onderzoeksmiddelen en mogelijkheden. Dit kan door het onderzoeksveld zelf van belang geacht worden, maar dient naar de mening van de DEC geen rol te spelen in de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van proefdieren.
6. De DEC ziet geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De onderzoeksgroep heeft reeds lange tijd ervaring met de toediening van chemotherapeutica onder beeldvorming en de lokale afgifte van een radiosensitizer. Zo zijn recentelijk twee fasen van onderzoek afgerond, waarin de optimale hyperthermie set-up en de optimale dosis voor de radiosensitizer en radiotherapie bepaald zijn. Tevens zijn er samenwerkingsverbanden, waaronder met de veterinaire praktijk. De DEC is derhalve van mening dat de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende zijn gewaarborgd en eraan bijdragen dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven.
8. In de aanvraag is duidelijk uiteengezet wat er in vorige projecten reeds onderzocht is en wat men in dit project nog gaat onderzoeken. Daarbij is helder aangegeven met behulp van welke onderzoeksstappen en -technieken de onderzoeksvragen beantwoord zullen worden. De DEC is van mening dat deze twee onderzoeksvragen logisch met elkaar samenhangen en terecht onderdeel zijn van een en hetzelfde project, omdat zij samen een goed beeld schetsen van de werkzaamheid en het voordeel van lokale afgifte t.o.v. vrij toegediende radiosensitizer. De ratio,

samenhang van het trainen van de benodigde technieken (fase 1) en het feitelijke experiment (fase 4) zijn duidelijk toegelicht.

De DEC heeft gediscussieerd over de vraag of het wenselijk is om het feitelijke experiment (fase 4) gelijktijdig te starten met de training (fase 1), omdat hiermee mogelijk ongewenste variatie gecreëerd kan worden. De DEC heeft de onderzoeker hier een vraag over gesteld en de DEC is van mening dat de onderzoekers dit goed opvangen (zie A9).

De DEC is derhalve van mening dat het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.

Welzijn dieren

9. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
 - ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
 - ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
 - ☐ Zwerfdieren (10h)
 - ☐ Hergebruik (1e lid 2)
 - ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
 - ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
 - ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn.
-
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het herhaaldelijk onder anesthesie brengen van de dieren t.b.v. het inbrengen van de tumorcellen en de tumorgroei, de hyperthermie behandeling en/of de radiotherapie en/of de behandeling met een radiosensitizer, het wegen van de dieren en de diverse bloedafnames zorgen er cumulatief voor dat de dieren matig ongerief ondervinden. Ook het herhaaldelijk (5X) onder anesthesie intra veneus aanprikken van de staartvene (t.b.v. de training) geeft matig ongerief.
12. Dierproeven gaan per definitie gepaard met een aantasting van de integriteit, omdat het dier instrumenteel wordt gebruikt, waarbij het ongerief ondergaat en daar zelf verder geen enkel voordeel van heeft. Daarnaast wordt de integriteit voor het overgrote deel van de dieren fysiek aangetast vanwege het induceren van de tumorcellen, welke uitgroeien tot een humane tumor. Het feit dat de muizen naakt zijn kan ook gezien worden als fysieke aantasting.

13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Na inductie van de tumorcellen wordt de tumorgroei, het gewicht en het algeheel welzijn van de dieren frequent (2-3 keer per week) gecontroleerd en worden zo nodig maatregelen genomen. De onderzoekers maken voor het bepalen van het humane eindpunt gebruik van verschillende criteria, waaronder het tumorvolume, een procentuele verlaging van het lichaamsgewicht binnen 2-3 dagen (>15%) of t.o.v. dag 0 (>20%), verminderde activiteit en ulceratie van de tumor. Klinische verschijnselen met ernstig ongerief en het metastaseren van de tumor zijn ook mogelijk humane eindpunten, maar zijn in eerder onderzoek niet waargenomen en worden derhalve ook niet verwacht. Men gaat er vanuit dat 5% tot 10% van de dieren, afhankelijk van de groep, het humane eindpunt zal bereiken.

Vanwege de opzet van de training worden in fase 1 geen humane eindpunten verwacht.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Voorafgaand aan dit project heeft uitgebreid *in vitro* onderzoek plaatsgevonden. Dit *in vitro* onderzoek heeft aangetoond dat de combinatie van lokale afgifte van een radiosensitizer in combinatie met radiotherapie mogelijk is. Maar vanwege het complexe samenspel tussen cellen, weefsels en organen, dat ten grondslag ligt aan de effecten van DOX/DOXIL/ThermoDox, al dan niet in combinatie met hyperthermie en al dan niet in combinatie met radiotherapie, is het voor dit project noodzakelijk om deze effecten *in vivo* te onderzoeken.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. De aanvrager heeft duidelijk uiteengezet hoe de statistische berekening van het benodigde aantal dieren tot stand gekomen is. De uitsluitingscriteria zijn helder verwoord en meegenomen in de berekening voor het aantal benodigde dieren en er wordt gewerkt met een randomized block design.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Voor de gehele aanvraag geldt dat de Code of Practice Dierproeven in Kankeronderzoek gevolgd wordt. De dieren worden nauwlettend gemonitord op welzijn en tumorgroei en er worden adequate en op de experimentele handelingen afgestemde anesthesie- en analgesieprotocollen toegepast om ongerief zoveel mogelijk te beperken. De dieren krijgen aangepast voedsel (weekbrokjes) aangeboden ter ondersteuning van de eetlust en de poot, waarin de tumor groeit, wordt regelmatig met vaseline ingesmeerd om het open gaan van de tumor en zwelling/roodheid als gevolg van de hyperthermie behandeling te beperken.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Er zullen voor het experiment alleen vrouwelijke dieren gebruikt worden. Om het chemotherapeuticum vrij te geven uit de liposomen, worden de dieren gedurende 1 uur op een waterbad geplaatst. Bij mannelijke dieren kan dit tot gevolg hebben dat de testes dichtbij of zelfs in het wateroppervlakte komen te liggen wat een flinke opwarming van de testes oplevert. Bij het gebruik van ThermoDox zou dit betekenen dat ook de testes een hoge dosis DOX kunnen krijgen. Ook kan het leiden tot een algehele verhoging van de lichaamstemperatuur omdat de testes een relatief groot deel van het muizenlichaam betreft. Beide, ongewenste, effecten kunnen voorkomen worden door het uitsluitend gebruik van vrouwelijke dieren. Ook voor de training worden alleen vrouwelijke dieren aangevraagd, omdat onderzoekers de trainingsomstandigheden zoveel mogelijk gelijk willen houden aan de omstandigheden van het experiment. De DEC is er van overtuigd dat de aanvrager in voldoende mate (wetenschappelijk) heeft onderbouwd dat het, om de doelstellingen te bereiken, noodzakelijk is om deze proeven met alleen vrouwelijke dieren uit te voeren.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood, vanwege isolatie van de tumoren en organen voor ex-vivo analyse. De dieren worden volgens een, bijlage IV van de EU richtlijn, passende methode gedood. De dieren die gebruikt worden voor de training worden niet gedood in het kader van het project.
20. De vraag over hergebruik is voor de dieren in het experiment (fase 4) niet van toepassing omdat de dieren gedood worden in het kader van het experiment. De dieren die gebruikt worden voor de training (fase 1) worden aangeboden voor hergebruik.

NTS

21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van dit onderzoek, namelijk onderzoek doen naar 1) de effectiviteit van lokale afgifte van een radiosensitizer uit een liposoom (DOXIL en ThermoDox) in combinatie met radiotherapie ten opzichte van vrij toegediende radiosensitizer (DOX) in combinatie met conventionele radiotherapie en 2) vermindering van de toxiciteit van lokale afgifte t.o.v. vrije toediening van een radiosensitizer, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de gebruikte proefdieren kan rechtvaardigen.
2. Er vindt een aanzienlijke aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met matig ongerief. Daar tegenover staat dat indien de hierboven genoemde doelstellingen behaald worden, dit project zal aantonen welke vorm van afgifte van een radiosensitizer in combinatie met radiotherapie de meest optimale werking heeft. Met behulp van deze resultaten kan de therapie voor de behandeling van lokale tumoren geoptimaliseerd worden, teneinde de overlevingskansen van patiënten te vergroten. De DEC kent hier veel gewicht aan toe. Tevens zal het behalen van de doelstellingen ertoe bijdragen dat de toxiciteit en de daarmee gepaarde gaande (ernstige) bijwerkingen verminderd kunnen worden omdat de radiosensitizer alleen in de tumor terecht komt en niet in het omliggende gezonde weefsel. Ook dit heeft invloed op een langere overleving van patiënten of in ieder geval op een verbeterde kwaliteit van leven. De DEC kent hier eveneens veel gewicht aan toe.
Het is aannemelijk dat de fundamentele en translationele doelstelling behaald zal worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken.
3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat het bepalen van de meest effectieve en minst toxische methode voor het toedienen van een radiosensitizer in combinatie met radiotherapie een substantieel belang vertegenwoordigt en dat dit belang opweegt tegen de aanzienlijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het werk van de aanvrager. Het project is goed en helder opgezet, de verschillende onderzoeksvragen zijn terecht ondergebracht in één project, en het is aannemelijk dat de gekozen strategie en experimentele aanpak, binnen de gestelde termijn, kunnen leiden tot het behalen van het doel binnen het kader van het project. Helder is dat dit project de afsluiting is van een viertal fases en dient als proof-of-principle. De DEC waardeert ook de heldere translatiestrategie die de onderzoekers voor ogen hebben, met de veterinaire kliniek als tussenstap alvorens de therapie humaan toe te passen. Vanwege de ervaring van de onderzoeksgroep en de samenwerkingsverbanden, is het in de ogen van de DEC reëel dat de resultaten uit dit project op termijn bij kunnen dragen aan het uiteindelijke doel van dit project. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat verdere vervangingsalternatieven niet mogelijk zijn. De DEC is ervan overtuigd dat het gekozen model leidt tot vermindering van het aantal benodigde dieren en dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is. Op grond van het

bovenstaande is de DEC van oordeel dat het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag gerechtvaardigd is.

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 is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht

Postbus 80125

3508 TC UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centraalcommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD1150020174266

Bijlagen

2

Datum 4 december 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 1 december 2017. Het gaat om uw project "Lokale radiosensitizer afgifte met behulp hyperthermie". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD1150020174266. 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 december 2017

Aanvraagnummer:

AVD1150020174266

Datum:
4 december 2017
Aanvraagnummer:
AVD1150020174266

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11500
Naam instelling of organisatie: UMC Utrecht
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
Postbus: 80125
Postcode en plaats: 3508 TC UTRECHT

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: researcher
Afdeling: Beeld
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: OIO
Afdeling: Beeld
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

Datum:

4 december 2017

Aanvraagnummer:

0150020174266

Over uw project

Geplande startdatum:

1 februari 2018

Geplande einddatum:

31 december 2021

Titel project:

Lokale radiosensitizer afgifte met behulp hyperthermie

Titel niet-technische samenvatting:

Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie

Naam DEC:

DEC Utrecht

Postadres DEC:

Postbus 85500 3508 GA Utrecht

E-mailadres DEC:

dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.035,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- ☒ Projectvoorstel
☒ Beschrijving Dierproeven
☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

☒ DEC-advies**Ondertekening**

Naam:



Functie:



Plaats:

Utrecht

Datum:

30 november 2017



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC

Postbus 80.011

3508 TA UTRECHT



**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

AVD1150020174266

Bijlagen

2

Datum 4 december 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 4 december 2017

Vervaldatum: 3 januari 2018

Factuurnummer: 174266

Ordernummer: o.v.v. CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD1150020174266	€ 1.035,00

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.

From: [REDACTED]
 To: [Secretariaat IVD](#)
 Subject: FW: Aanhouden AVD1150020174266
 Date: 12 January 2018 14:49:38

Beste [REDACTED]

Bij deze de mail die ik gekregen heb van de CCD van mijn project.
 Ik begrijp dat jullie mijn projectaanvraag uploaden aan de CCD?

Groeten,
 [REDACTED]

From: info@zbo-ccd.nl [info@zbo-ccd.nl]
 Sent: Friday, December 29, 2017 1:40 PM
 To: [REDACTED]
 Cc: [REDACTED]
 Subject: Aanhouden AVD1150020174266

Geachte [REDACTED]

Op 01-12-2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Lokale radiosensitizer afgifte met behulp hyperthermie" met aanvraagnummer AVD1150020174266. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In dit bericht leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Onduidelijkheden

-Kunt u aangeven of de "code of practice dierproeven in het kankeronderzoek" gehanteerd wordt bij de uitvoering van fase 4 van de aanvraag?

-In de aanvraag omschrijft u dat fase 2 en 3 reeds zijn uitgevoerd onder een goedgekeurd DEC-protocol. Wilt u de sectie over Vermindering in zowel de NTS als bijlage 3.4.4.1 uitbreiden met kennis die u hierover heeft opgedaan in fase 2 en 3?

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

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

Met vriendelijke groet,
 Namens de Centrale Commissie Dierproeven


www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl

De informatie opgenomen in dit bericht kan vertrouwelijk zijn en is uitsluitend bestemd voor de geadresseerde. Indien u dit bericht onterecht ontvangt, wordt u verzocht de inhoud niet te gebruiken en de afzender direct te informeren door het bericht te retourneren. Het Universitair Medisch Centrum Utrecht is een publiekrechtelijke rechtspersoon in de zin van de W.H.W. (Wet Hoger Onderwijs en Wetenschappelijk Onderzoek) en staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel voor Midden-Nederland onder nr. 30244197.

Denk s.v.p. aan het milieu voor u deze e-mail afdrukt.

This message may contain confidential information and is intended exclusively for the addressee. If you receive this message unintentionally, please do not use the contents but notify the sender immediately by return e-mail. University Medical Center Utrecht is a legal person by public law and is registered at the Chamber of Commerce for Midden-Nederland under no. 30244197.

Please consider the environment before printing this e-mail.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht

Postbus 80125

3508 TC UTRECHT



**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

AVD1150020174266

Bijlagen

1

Datum 16 januari 2018

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 1 december 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Lokale radiosensitizer afgifte met behulp hyperthermie" met aanvraagnummer AVD1150020174266. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet).

U kunt met uw project starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 februari 2018 tot en met 31 december 2021.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie (DEC) DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is ontvangen op 29 november 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Het advies van de DEC is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Datum:
16 januari 2018
Aanvraagnummer:
AVD1150020174266

Nadere vragen aanvrager

Op 29 december 2017 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. De aanvullingen hadden betrekking op het al dan niet toepassen van de "code of practice dierproeven in het kankeronderzoek" in dit project. Het uitbreiden van de sectie "Vermindering" in het projectvoorstel en de NTS. Uw antwoord is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Alle hierboven genoemde stukken liggen ten grondslag aan ons besluit.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

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).

Datum:

16 januari 2018

Aanvraagnummer:

AVD1150020174266

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: UMC Utrecht
Adres: Postbus 80125
Postcode en plaats: 3508 TC UTRECHT
Deelnemersnummer: 11500

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 februari 2018 tot en met 31 december 2021, voor het project "Lokale radiosensitizer afgifte met behulp hyperthermie" met aanvraagnummer AVD1150020174266, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is researcher.

Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 1 december 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 12 januari 2018;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.1 Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie, zoals ontvangen op 12 januari 2018;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 12 januari 2018;
 - d Advies van Dierexperimentencommissie zoals ontvangen op 29 november 2017
 - e De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 12 januari 2018.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.1 Lokale radiosensitizer afgifte in combinatie met radiotherapie			
	Muizen (Mus musculus)	470	100,0% Matig

Ter informatie

Onderstaande informatie is opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden 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 worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



Aanvraagnummer:
AVD1150020174266

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:
AVD1150020174266

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 blijvende 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.