

Formulier voor de ethische evaluatie van dierproeven

OPMERKINGEN :

- DIT MODEL ILLUSTREREET DE GEGEVENS DIE NODIG ZIJN VOOR EEN GOEDE EVALUATIE VAN DIERPROEVEN. DEZE DIERPROEVEN MOETEN DEEL UITMAKEN VAN EEN ONDERZOEKSPROJECT.
- VOOR DE ONTWIKKELING EN/OF INSTANDHOUDING VAN GENETISCH GEMANIPULEERDE PROEFDIEREN IS EEN SPECIFIEK VERKORT AANVRAAGFORMULIER BESCHIKBAAR.
- EEN GEBRUIKER (voorheen laboratoriumdirecteur) MOET ERVOOR ZORGEN DAT ER MINSTENS GEANTWOORD WORDT OP ALLE VRAGEN IN DIT MODEL.
- ALLE DOCUMENTEN (INCLUSIEF DEZE IDENTIFICATIEFICHE) EN BOODSCHAPPEN DIE GEDIEND HEBBEN TOT DE ETHISCHE EVALUATIE VAN EEN PROJECT MOETEN BIJGEHOUDEN WORDEN TOT 3 JAAR NA HET EINDE VAN EEN PROJECT.
- GELIEVE DIT AANVRAAGFORMULIER SAMEN MET DE ANNEXEN (ZIE SECTIE 4) GEGROEPEERD IN EEN (1) PDF-DOCUMENT TE BEZORGEN. DE NTS (in Nederlands) ZAL ALS EEN APARTE EXCEL FILE MEEGESTUURD WORDEN.

In te vullen door de projectverantwoordelijke die de aanvraag indient

Titel van het project: **PET-gebaseerde dose painting radiotherapie van hersentumoren bij kleine proefdieren**

Code van het project (indien van toepassing) :

Gebruiker : Erkenning LA **1400553**

Verantwoordelijke : **Filip De Vos**

Naam van de verantwoordelijke proefleider voor het project : **Sam Donche**

Startdatum en duur van het project : **01/03/2018; 4 jaar**

Aanvraag kadert in een financiering bij FWO Vlaanderen:

Mandaat- of projecthouder:

Mandaat/project:

Goedkeuring geldig: van tot

- ☒ Nieuw project
- ☐ Aanpassing/wijziging met mogelijke negatieve invloed op het dierenwelzijn (met daarin inbegrepen een stijging (>120%) van het aantal voorziene dieren); oorspronkelijk ECD nr: in dit geval moet een volledige stand van zaken van het project als **aparte bijlage** bij het formulier worden gevoegd : ECD
- ☐ Verlenging van het project; oorspronkelijk ECD nr: in dit geval moet de retrospectieve analyse van het project als **aparte bijlage** bij het formulier worden gevoegd: ECD

Domein van het project (zie ook punt 3):

- ☐ Fundamenteel onderzoek
- ☒ Translationeel of toegepast onderzoek
- ☐ Reglementaire testen
- ☐ Routineproductie
- ☐ Bescherming van het leefmilieu
- ☐ Behoud van diersoorten
- ☐ Forensisch onderzoek
- ☐ Hoger onderwijs of opleiding
- ☐ Behoud van genetisch gemodificeerde kolonies

Verwachte ernst van het project: indien er meerdere dierproeven met een verschillende ernstgraad in het kader van het project worden uitgevoerd, geef dan hier de hoogst verwachte ernstgraad aan:

terminaal ☐

licht ☐

matig ☐

ernstig ☒

in vitro ☐

In te vullen door de verantwoordelijke van het project

1. GEBRUIKERS (laboratorium met erkenning)

Gebruikend laboratorium/dienst:

Naam :

INFINITY labo

Adres:

-1P8 Universitair Ziekenhuis, Corneel Heymanslaan 10, 9000 Gent

Erkenningsnummer LA:

LA1400553

Verantwoordelijke van de gebruikende instelling:

Titel en naam

Prof. Dr. Filip De Vos

Tel :

168066

E-mail:

FilipX.Devos@UGent.be

Indien een deel van de dierproeven uitgevoerd wordt in een andere dan het hierboven vermelde laboratorium, preciseer dan duidelijk waar die dierproeven plaatsvinden en bezorg het bewijs dat de ethische commissie waarbij de gebruikende partnerinstelling is aangesloten de proeven heeft toegelaten :

Gegevens van de gebruikende partnerinstelling (buiten bevoegdheid ECD faculteit GE & FW):

Erkenningsnummer LA:

Verantwoordelijke :

Tel :

E-mail:

Aanvragen bij de Ethische Commissie waarbij de gebruikende partnerinstelling van het project is aangesloten :

Onderzoeksgroep:

Adres:

2. PERSONEEL

Verantwoordelijke proefleider van het project (De verantwoordelijke proefleider is verantwoordelijk voor het ontwerp van het project, de uitvoering ervan en het goed gebruik van de dieren conform de projectvergunning):

Naam Proefleider (er kan slechts 1 verantwoordelijke proefleider zijn)

Sam Donche
Tel:
25249
E-mail:
Sam.Donche@UGent.be
Postadres (=BRIEVENBUSnaam UZGent):
Vakgroep Radiologie en Nucleaire Geneeskunde, P8 Universitair Ziekenhuis, Corneel Heymanslaan 10, 9000 Gent

Personeel dat aan de proeven deelneemt :

Naam	Proefleider	Actieve deelnemer	Bijzondere dierversorger	Vooraf gevolgde specifieke opleiding (vermeld de titel en de datum waarop het certificaat werd behaald); een kopie van het attest dient bij de ECD afgeleverd te worden
Sam Donche	☒	☒	☐	Lab Animal Science I & II (01/07/2016), reeds in bezit
Benedicte Descamps	☐	☒	☐	Lab Animal Science I & II (01/2012), reeds in bezit
Jeroen Verhoeven	☐	☒	☐	Lab Animal Science I & II (06/02/2015), reeds in bezit
Valerie De Meulenaere	☐	☒	☐	Lab Animal Science I & II (01/2012), reeds in bezit
	☐	☐	☐	
	☐	☐	☐	
	☐	☐	☐	
	☐	☐	☐	
	☐	☐	☐	
	☐	☐	☐	
	☐	☐	☐	

Persoon binnen de gebruikende instelling (erkeningsnummer) die garant staat voor de goede opleiding en de juiste competentie van het personeel dat bij de dierproeven betrokken is:

Dr. B. Descamps

Leden van de lokale dierenwelzijnscl binnen het gebruikend laboratorium:

Dr. B. Descamps, Dr. Sara Neyt, Dr. Maxime Mahu, Joeri Vermeiren
--

Is een lid ECD betrokken bij dit experiment?: Zo ja, wie en in welke hoedanigheid?
(samenstelling ECD: <http://www.ugent.be/ge/nl/raden> - inloggen vereist)

Nee

3. PROJECT: beschrijving, doel en verantwoording.

Beschrijf in maximum 1000 woorden de wetenschappelijke aspecten van het project (zonder de proeven te beschrijven die het voorwerp uitmaken van hoofdstuk 5) en de finale doelstellingen ervan.

Het project moet zodanig worden beschreven dat het verstaanbaar is voor alle leden van de Ethische Commissie. De kwaliteit van de informatie draagt bij tot een efficiënte evaluatie van het project door de Ethische Commissie.

In dit kader is het onontbeerlijk om volgende zaken te preciseren

(i) de bibliografische referenties (met precisering van de datum van die referenties) die bijdragen tot de verantwoording van het voorgestelde onderzoek.

(ii) de huidige stand van het onderzoek waarbinnen dit project kadert en

(iii) de wetenschappelijke, ethische en maatschappelijke overwegingen die toelaten het verwachte voordeel van het project te beoordelen. De wetenschappelijke onbekendheden of wetenschappelijke of klinische noodzakelijkheden die het project verantwoorden, moeten worden vermeld:

Beschrijving, doel en verantwoording:

Glioblastomata (GB) zijn de meest voorkomende en meest agressieve, kwaadaardige primaire hersentumoren. De gemiddelde overleving na een nieuwe diagnose is, zelfs met de huidige state-of-the-art behandeling (maximale tumorresectie gecombineerd met radio- & chemotherapie), slechts 12 à 14 maanden. [1]

De laatste jaren werden tientallen nieuwe medicijnen voor de behandeling van kwaadaardige primaire hersentumoren naar voren geschoven. Echter, tot op heden zijn de resultaten teleurstellend, in die zin dat de overleving niet significant verbeterd is.

Daarom stelt de neuro-oncologie onderzoeksgroep van het Universitair Ziekenhuis Gent/Universiteit Gent een andere aanpak voor, namelijk het optimaliseren van de radiotherapiebehandeling voor hooggradige gliomen.

Momenteel worden hersentumoren voor de start van de radiotherapie ingetekend in de planningssoftware met behulp van anatomische beeldvorming, zoals computer tomography (CT) en magnetic resonance imaging (MRI). CT en anatomische MRI zijn evenwel niet in staat om de meest actieve, maligne en/of meest stralingsresistente tumorregio's te identificeren. Bijgevolg worden hooggradige gliomen op dit moment bestraald met een uniforme dosis.

Aanvullende informatie over het biologisch gedrag van de tumorcellen incorporeren zou waardevol kunnen zijn om de therapie te optimaliseren en de overleving van de patiënt te verbeteren. Deze biologische informatie kan verkregen worden met behulp van moleculaire beeldvormingstechnieken, zoals positron emission tomography (PET).

PET-beeldvorming biedt de mogelijkheid om de biologische heterogeniteit van de tumor te visualiseren. Zo kunnen de delen van de tumor met de hoogste maligniteitsgraad en/of grootste stralingsresistentie in beeld gebracht worden met behulp van specifieke PET-tracers. [2]

Recent werd een nieuwe techniek in de radiotherapie ontwikkeld die rekening houdt met de moleculaire heterogeniteit van tumoren. Bij deze nieuwe aanpak, 'dose painting' genoemd, wordt de totale voorgeschreven dosis aan de tumor herverdeeld op basis van biologische verschillen vastgesteld met PET-beeldvorming (met verschillende tracers).

In het Universitair Ziekenhuis Gent is er al ervaring met 'dose painting' bij patiënten met hoofd- & halstumoren. [3]

De neuro-oncologie onderzoeksgroep wil deze nieuwe aanpak graag uitbreiden naar kwaadaardige primaire hersentumoren. Dit willen we realiseren via een translationele aanpak en dus wensen we te kunnen starten met een proof-of-concept in kleine proefdieren.

Naast de optimalisatie van de radiotherapie van hooggradige hersentumoren onder de vorm van dose painting door gebruik te maken van PET-beeldvorming, zullen verschillende PET-tracers die in-house ontwikkeld werden en/of in ontwikkeling zijn, preklinisch getest worden met als doel de meest geschikte PET-tracer te selecteren voor een fase I klinische studie bij patiënten met hooggradige gliomen.

Er zullen enerzijds 'proliferatie' PET-tracers getest worden. Deze PET-tracers brengen de tumordelen in beeld die snelst delen (= meest maligne). Anderzijds zullen 'hypoxie' PET-tracers geëvalueerd worden. Hypoxie zorgt immers voor stralingsresistentie, wat op zijn beurt aan de basis ligt voor lokaal tumorherval.

[1] Anton, K., Baehring, J. M., & Mayer, T. (2012). Glioblastoma multiforme: overview of current treatment and future perspectives. *Hematology/oncology clinics of North America*, 26(4), 825-853.

[2] Niyazi, M., Geisler, J., Siefert, A., Schwarz, S. B., Ganswindt, U., Garry, S., ... & Bartenstein, P. (2011). FET-PET for malignant glioma treatment planning. *Radiotherapy and Oncology*, 99(1), 44-48.

[3] Duprez, F., De Neve, W., De Gersem, W., Coghe, M., & Madani, I. (2011). Adaptive dose painting by numbers for head-and-neck cancer. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 80(4), 1045-1055.

☐ Fundamenteel onderzoek: *Preciseer in welk onderzoeksdomein dit project een bijdrage betekent op het vlak van kennis? Op welke manier zal deze kennis verspreid worden? Preciseer of het project door andere onderzoeksinstanties geëvalueerd werd en zo ja vermeld welke.* (uitplooien & onderdeel aanduiden naar analogie van de statistieken)

PB3 Zenuwstelsel

☒ Translationeel of toegepast onderzoek: *Preciseer welke voordelen gehaald worden uit dit onderzoek en hoe en binnen welke termijn dit zal bijdragen tot het welzijn van mens of dier.* (uitplooien & onderdeel aanduiden naar analogie van de statistieken)

PT21 Kanker bij de mens

Zoals reeds vermeld hierboven, worden (hersens)tumoren momenteel met een uniforme stralingsdosis behandeld. Het te behandelen tumorvolume wordt ingetekend met behulp van anatomische beeldvorming, zoals CT en anatomische MRI, maar houdt geen rekening met biologische verschillen tussen tumorcellen.

PET-beeldvorming met specifieke tracers brengt de moleculaire heterogeniteit van de tumor in beeld. Deze moleculaire beeldvormingstechniek kan de meest actieve en/of stralingsresistente tumorgebieden in beeld brengen.

Door de moleculaire heterogeniteit van de tumor in rekening te brengen bij de opmaak van het radiotherapiebehandelplan kan de voorgeschreven dosis aan de totale tumor herverdeeld worden: zo kunnen meer maligne tumorregio's bestraald worden met relatief hogere dosis dan regio's met relatief minder kwaadaardige kenmerken. Onze hypothese is dat door de stralingsdosis af te stemmen op de maligniteitsgraad lokaal tumorherval in de hersenen kan verminderd worden. Aldus hopen we de prognose en de overleving gunstig te beïnvloeden, bovendien met behoud van de levenskwaliteit.

Door het preklinisch testen van deze techniek met verschillende radioliganden, kan de toepasbaarheid worden nagegaan in ratten. Indien dit succesvol blijkt te zijn zullen verdere klinische studies worden aangevat.

☐ Reglementaire test: *Wanneer dit een test betreft die bij wetgeving is vereist, is het onontbeerlijk om de wettelijke basis of de reglementaire richtlijnen ervan te preciseren.*

In dit geval moet men aankruisen binnen welk kader deze wettelijke verplichting valt:

- ☐ Wetgeving die aan de vereisten van de Europese Unie voldoet
- ☐ Wetgeving die enkel aan de nationale vereisten voldoet (binnen de Europese Unie)
- ☐ Wetgeving die enkel voldoet aan de vereisten die niet onder de bevoegdheid van de Europese Unie vallen

...

Subcategorieën:

- Kwaliteitscontrole (m.i.v. tests van de veiligheid en werkzaamheid van charges):

nvt

- Toxiciteits- en andere veiligheidstests m.i.v. farmacologie

nvt

☐ Routineproductie: *Met de routineproductie (bloedproducten, diagnosekits,...) wordt beoogd in bepaalde behoeften te voorzien. In dat geval moeten de behoeften toegelicht worden evenals de periode waarbinnen deze behoeften bestaan.* (uitplooien & onderdeel aanduiden naar analogie van de statistieken)

...

☐ Bescherming van het natuurlijk milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier: *Preciseer op welke manier dit onderzoek zal bijdragen aan het welzijn of de gezondheid van mens of dier.*

☐ Behoud van diersoorten: *Deze testen kaderen meestal binnen grote wetenschappelijke en multidisciplinaire programma's. Alle informatie aan de hand waarvan die programma's gemotiveerd kunnen worden, moet worden bezorgd.*

☐ Forensisch onderzoek: *De verwijzing naar dit onderzoek moet worden vermeld met respect voor de vertrouwelijkheid van dit onderzoek.*

☐ Hoger onderwijs of opleiding: *Preciseer welk doel je wil bereiken en waarom dit niet kan bereikt worden met alternatieve methoden. Er moet aangetoond worden dat het gebruik van dieren onvermijdelijk is om de doelstellingen op het vlak van opleiding en competentieontwikkeling te realiseren. Doorgaans dient voorkeur gegeven te worden aan het gebruik van alternatieve methoden of beschikbare kadavers (niet specifiek gedood voor dit doel).*

4. DIERPROEVEN

Aantal verschillende dierproeven dat wordt gedaan om het project te realiseren:

1

OPMERKING: aangezien een project meerdere dierproeven (verschillend naargelang de manipulaties, diersoort, ernstgraad,...) kan inhouden, moet de aanvrager het formulier "ECD_aanvraagform_2015_Annex_Dierproef" invullen in functie van het aantal opgegeven dierproeven (bijvoorbeeld als er drie dierproeven plaatsvinden, moet het formulier in evenveel bijlagen worden toegevoegd aan de aanvraag (Annex Dierproef_1, Annex Dierproef_2 en Annex Dierproef_3)).

Gelieve deze verschillende annexen te groeperen in één document en als pdf door te mailen.

5. DIEREN

5.1 Soort en aantal voorziene dieren

Dier-soort	Stam	Voor-ziene aantal	Genetische status *			Ontwikkelings-stadium/ Leeftijd waarop de dieren worden gebruikt	Geslacht
			Niet genetisch gemodificeerd	Genetisch gemodificeerd zonder pijnlijk / oncomfortabel fenotype	Genetisch gemodificeerd met pijnlijk / oncomfortabel fenotype		
Rat	Fischer F344	330	☒	☐	☐	Jong Adult	Vrouwelijk
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		
			☐	☐	☐		

* De genetisch gemodificeerde dieren (transgeen, “knock-out” en andere vormen van genetische modificatie) alsook natuurlijke of geïnduceerde mutanten vallen onder “genetisch gemodificeerde dieren”.

De ontwikkeling van een nieuwe genetisch gemodificeerde lijn wordt **altijd** beschouwd als een dierproef.

Het in stand houden van een reeds ontwikkelde lijn met een pijnlijk/oncomfortabel fenotype wordt **altijd** beschouwd als een dierproef

Voor de ontwikkeling van een nieuwe lijn en/of instandhouding van een reeds bestaande lijn (zonder gebruik van dieren voor een specifiek experiment) moet het verkorte aanvraagformulier “xxxx” gebruikt worden.

5.2 Herkomst van dieren

a) Leverancier (naam, land, erkenningsnummer):

Dieren uit externe instituten (universiteiten, vakgroepen of laboratoria) kunnen enkel gebruikt worden wanneer het instituut in het land van uitvoer erkend is als fokker/leverancier, of een Belgisch LA2- erkenning heeft

Naam	Land	Erkeningsnr in land van oorsprong
Charles River laboratories Belgium	België	LA 2230391
Janvier	Frankrijk	A53169

b) Vrijstelling inzake gebruik vereist? (Een vrijstelling is nodig als het gaat om het gebruik van (i) dieren die niet specifiek gekweekt werden om gebruikt te worden in dierproeven en toch behoren tot een diersoort die voorkomt in bijlage 1 van het koninklijk besluit van 29 mei 2013, (ii) beschermde dieren, (iii) in het wild gevangen dieren en (iv) zwerfdieren of verwilderde dieren.)- landbouwdieren

☐ Ja. In dit geval moet verduidelijkt worden voor welke categorie van dieren een vrijstelling wordt aangevraagd, en moet er bovendien wetenschappelijk bewezen worden dat het doel van de proef enkel kan worden bereikt door middel van het gebruik van deze dieren :

--

☒ Neen

c) Hergebruik: (gaat het om dieren die hergebruikt worden?)

☐ Ja (de werkelijke ernst van de voorgaande dierproeven dient gepreciseerd te worden op 'Annex Beschrijving Dierproeven b)/iii)/2^{de} alinea)

☒ Neen

5.3 Huisvestingsvoorwaarden van de dieren

Verduidelijk of alle normen voor huisvesting opgenomen in bijlage 4 van het koninklijk besluit van 29 mei 2013 gerespecteerd worden? Beschrijf de gebruikte methoden voor de verrijking van het milieu van de dieren. Indien de dieren niet in groep gehuisvest zullen worden, preciseer dan de reden hiervoor en de maximale duur van de aparte huisvesting. Indien wordt afgeweken van de huisvestingsnormen beschreven in bijlage 4 van het koninklijk besluit van 29 mei 2013, licht dan de mogelijk te verwachten negatieve gevolgen toe voor de dieren en preciseer welke maatregelen genomen worden om die gevolgen te beperken:

Tussen de handelingen in worden de dieren gehuisvest in het Centraal Animalarium van het UZ Gent. Daar staat men in voor een correcte huisvesting en dierenwelzijn.

De dieren worden ook in het Infinity lab onder gecontroleerde omstandigheden gehouden (12 uur licht/donker cyclus; 20-24°C en 40-70% relatieve vochtigheid) met voedsel en water ad libitum.

5.4 Dieren en de toepassing van de 3V's

a) Het principe van de 3 V's moet altijd worden toegepast. Er moet in het bijzonder aandacht geschonken worden aan methoden die het dier kunnen vervangen.

i) Indien er een alternatieve methode bestaat waarbij er geen dieren worden gebruikt om de doelstelling van het project te realiseren, geef dan aan waarom deze niet wordt gebruikt (welke zijn de alternatieve methoden die u heeft geanalyseerd en beschrijf waarom deze niet in het project gebruikt kunnen worden):

Evaluatie van radiotherapiebehandeling is enkel mogelijk met in vivo studies.

ii) Welke zijn de bronnen die geraadpleegd werden en op welke datum werden deze geraadpleegd?

Regulatorische testen:

- recente lijst van alternatieven gevalideerd door de OESO/OECD
(<http://www.oecd.org>)

☐ geraadpleegd op:

- recente lijst van alternatieven gevalideerd door EURL ECVAM
(<http://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu>)

☐ geraadpleegd op:

- recente lijst van alternatieven gevalideerd door European Pharmacopoeia

☐ geraadpleegd op:

- Andere (specifieer):

☐ geraadpleegd op:

Onderzoek :

- Databanken en/of uitgaven van ECVAM of FRAME
25/01/2018

☒ geraadpleegd op:

- Invitox
25/01/2018

☒ geraadpleegd op:

- SIS (<http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/>)

☐ geraadpleegd op:

- Go3Rs (searches pub med) (<http://www.gopubmed.org/web/go3r/>)

☐ geraadpleegd op:

- Andere (specifieer) :

☐ geraadpleegd op:

Onderwijs:

- Norina (<http://www.oslovet.norecopa.no>)

☐ geraadpleegd op:

- NCA (<http://www.nkca.nl/>)

☐ geraadpleegd op:

- Interniche (<http://www.interniche.org/>)

☐ geraadpleegd op:

- Andere (specifieer) :

☐ geraadpleegd op:

iii) Welke alternatieve benadering ter vervanging van dieren kan er gedurende het lopende project overwogen worden?

De dieren kunnen niet worden vervangen door alternatieve benaderingen aangezien er (nog) geen in de literatuur kunnen worden teruggevonden.

b) Naast vervanging moet men tevens de nodige aandacht schenken aan methoden die het aantal gebruikte dieren kunnen verminderen; een rationele aanpak bij het ontwerp van een project, het gebruik en de huisvesting van de dieren is nodig (vermindering en verfijning).

i) Diersoort:

Toon de relevantie aan van de gekozen diersoort(en). Er moet hierbij voldaan worden aan de vereiste om diersoorten te gebruiken die minder pijn ervaren, minder lijden of minder blijvende schade ondergaan met eenzelfde betrouwbaarheid.

De rat wordt gekozen als diersoort aangezien deze reeds met succes gebruikt werd in onze onderzoekslaboratoria (ECD12/28 (+ aanv2), ECD15/39, ...). Alternatieven met muizen werden beschreven in de literatuur maar met het oog op beeldvorming zou dit een beperkende factor zijn (ontoereikende spatiale resolutie PET en MRI scanners).

ii) Aantal:

Indien mogelijk, toon aan dat het aantal gebruikte dieren in het project overeenstemt met het statistisch vereiste aantal om relevante resultaten te verkrijgen vanuit wetenschappelijk oogpunt.

Aan de hand van een G*Power analyse (zie Annex) werd een populatiegrootte van 18 dieren per studiegroep bekomen.

In het experiment zullen 12 studiegroepen worden onderzocht:

- 1) een controle groep zonder RT,
- 2) conventionele MRI-gebaseerde RT,
- 3) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-1,
- 4) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-2,
- 5) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-3,
- 6) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-4,
- 7) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'hypoxie' tracer-1
- 8) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-1,
- 9) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-2,
- 10) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-3,
- 11) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-4,
- 12) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'hypoxie' tracer-1

Aangezien er 18 ratten per onderzoeksgroep worden voorzien, verkrijgt men 216 dieren. Het inoculeren van de tumorcellen heeft echter een slaagpercentage van 66%. Dus zijn er in totaal 324 ratten nodig om dit experiment uit te voeren. Aangezien enkele dieren nodig zijn om de verschillende stappen van het onderzoek te testen, wordt dit totaal tot 330 verhoogd.

Welke statistische bronnen werden geraadpleegd (statistisch model, expertise)?

Op basis van de expertise van het INFINITY labo werd een G*Power analyse uitgevoerd (zie Annex)

In geval van statistische analyse, motiveer dan het gekozen model en vermeld de gekozen variabelen (Power (1-beta), significantie (alfa), effect size, ...) nuttige link: <http://www.gpower.hhu.de/en.html>

Zie Figuur Annex

Indien er geen analyse werd uitgevoerd, motiveer dan waarom dit niet gebeurd is:

Is een samenwerking met een ander (intern of extern) laboratorium mogelijk om zo het aantal gebruikte dieren te verminderen (door gemeenschappelijk gebruik van de dieren, door verschillende laboratoria de organen van eenzelfde dier te laten gebruiken)?

Neen ☒

Ja ☐

Welke maatregelen werden genomen om duplicatie van dierproeven te vermijden?

De literatuur wordt continue gemonitord en er wordt contact gehouden met andere onderzoekers in dit onderzoeksdomein.

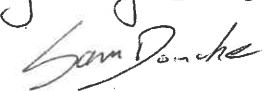
NTS: Niet-vertrouwelijke en niet-technische samenvatting (*De verantwoordelijke ontwerper van het project moet een samenvatting van het project opstellen. Deze samenvatting is beknopt, vermijdt het gebruik van technische termen en onderstreept het belang van het project. Denk eraan dat de samenvatting tot het grote publiek gericht is. Ze moet worden ingevuld in een apart Excel bestand en bij de vergunningsaanvraag worden gevoegd*).

Formulier voor de ethische evaluatie van dierproeven

Herhaling titel project:

PET-gebaseerde dose painting radiotherapy van hersentumoren bij kleine proefdieren

Naam, datum en Handtekening van de verantwoordelijke proefleider, voorafgegaan van "Gelezen en goedgekeurd":

Sam Donche Gelezen & goedgekeurd
22/02/18 

Naam, datum en Handtekening van de verantwoordelijke van de gebruikende instelling, voorafgegaan van "Gelezen en goedgekeurd":

Filip De Vos Gelezen & goedgekeurd
20/2/18  i.o.

Dit volledig ingevuld formulier, samen met de annex beschrijving van de dierproeven, als bijlage elektronisch versturen t.a.v. P. Meuleman, Voorzitter Ethische Commissie Dierproeven, p/a. ecd.ge@ugent.be

Beide laatste bladzijden met originele handtekeningen elektronisch bezorgen (scan) en met post nasturen naar:
P. Meuleman, Voorzitter Ethische Commissie Dierproeven,
p/a, Decanaat 3 K3, De Pintelaan 185, 9000 Gent.

ANNEX BESCHRIJVING DIERPROEVEN

OPMERKINGEN:

- AANGEZIEN EEN PROJECT MEERDERE DIERPROEVEN (verschillend naargelang de manipulaties, diersoort, ernstgraad,...) KAN INHOUDEN, MOET DE AANVRAGER DEZE ANNEX TELKENS VOLLEDIG DUPLICEREN IN FUNCTIE VAN HET AANTAL OPGEGEVEN DIERPROEVEN (BIJVOORBEELD ALS ER DRIE DIERPROEVEN PLAATSVINDEN, MOET HET FORMULIER DRIE ANNEXEN BEVATTEN). DEZE ANNEXEN MOETEN GEGROEPEERD WORDEN IN EEN PDF-DOCUMENT EN ALS BIJLAGE MEEGESTUURD WORDEN MET HET AANVRAAGFORMULIER.
- DE AANVRAGER MOET DE STRUCTUUR VAN DIT DOCUMENT BEHOUDEN EN OP ALLE VRAGEN ANTWOORDEN.

TOTAAL AANTAL DIERPROEVEN BIJ DEZE AANVRAAG: 1

Titel van dierproef nr. 1

PET-gebaseerde dose painting radiotherapie van hersentumoren bij kleine proefdieren

a) Gedetailleerde beschrijving van de dierproef:

i) Relevantie en verantwoording van de dierproef:

Glioblastomata (GB) zijn de meest voorkomende en meest agressieve kwaadaardige primaire hersentumoren. De gemiddelde overleving na een nieuwe diagnose is, zelfs met de huidige state-of-the-art behandeling (d.i. maximale tumorresectie gecombineerd met radio- & chemotherapie), slechts 12 à 14 maanden. [1]

In de laatste jaren werden tientallen nieuwe medicijnen voor de behandeling van kwaadaardige primaire hersentumoren naar voren geschoven. Echter, tot op heden zijn de resultaten teleurstellend, in die zin dat de overleving niet significant verbeterd is.

Daarom stelt de neuro-oncologie onderzoeksgroep van het Universitair Ziekenhuis Gent/Universiteit Gent een andere aanpak voor, namelijk het optimaliseren van de radiotherapiebehandeling voor hooggradige gliomen.

[1] Anton, K., Baehring, J. M., & Mayer, T. (2012). Glioblastoma multiforme: overview of current treatment and future perspectives. *Hematology/oncology clinics of North America*, 26(4), 825-853.

ii) Aantal loten en aantal dieren per lot: het aantal dieren per lot, het aantal herhalingen van de dierproef en het totale aantal dieren in de dierproef moet duidelijk aangegeven worden

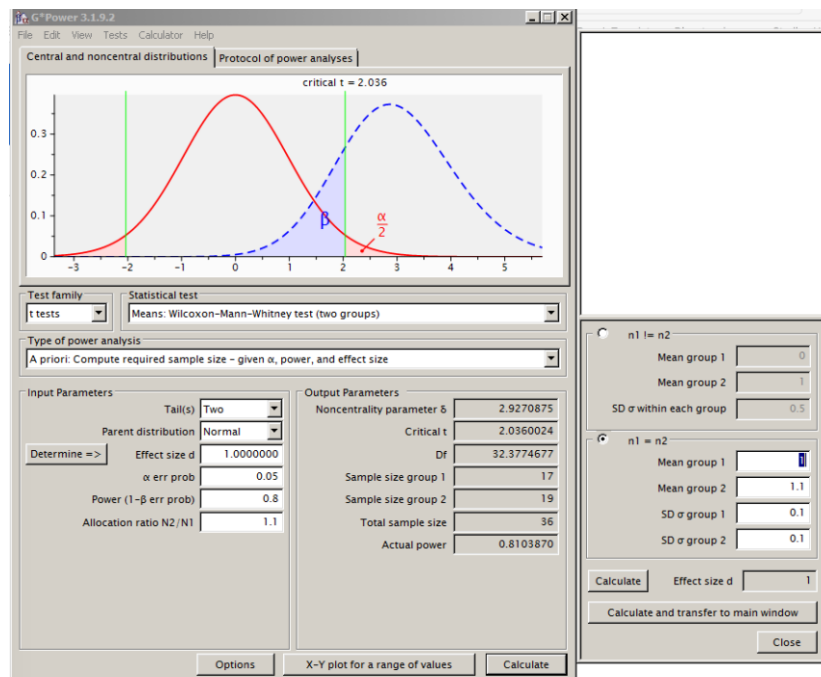
In het experiment zullen 12 studiegroepen worden onderzocht:

- 1) een controle groep zonder RT,
- 2) conventionele MRI-gebaseerde RT,
- 3) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-1,
- 4) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-2,
- 5) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-3,
- 6) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'proliferatie' tracer-4,
- 7) PET-gebaseerde 'dose painting' mbv 'hypoxie' tracer-1
- 8) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-1,
- 9) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-2,
- 10) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-3,
- 11) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'proliferatie' tracer-4,
- 12) MRI-PET-gebaseerde RT mbv 'hypoxie' tracer-1

Aangezien er 18 ratten per onderzoeksgroep worden voorzien, verkrijgt men 216 dieren. Het inoculeren van de tumorcellen heeft echter een slaagpercentage van 66%. Dus zijn er in totaal 324 ratten nodig om dit experiment uit te voeren. Aangezien enkele dieren nodig zijn om de verschillende stappen van het onderzoek te testen, wordt dit totaal tot 330 verhoogd.

iii) Verantwoord hoe het aantal te gebruiken dieren in deze dierproef werd bepaald:

Op basis van de expertise van het INFINITY labo werd een G*Power analyse uitgevoerd (zie screen shot hieronder) om het aantal dieren per groep te schatten. Er wordt ingeschat dat er ongeveer **18** dieren per groep zullen nodig zijn. Het gemiddelde slaagpercentage om een GB te induceren ligt momenteel ronde de 66%. Indien 18 ratten van een studiegroep een bepaalde procedure dienen te ondergaan, dan moeten in werkelijkheid bij **27** dieren tumorcellen worden ingebracht. Zoals hierboven weergegeven worden er 12 groepen bestudeerd. Hierbij is het belangrijk om op te merken dat er tussentijdse statistische analyses zullen uitgevoerd. Indien hieruit blijkt dat er al significante effecten zichtbaar zijn, wordt het aantal dieren per groep vermindert.



iv) Beschrijf in detail per groep alle uitgevoerde handelingen. Beschrijf precies en chronologisch de verschillende stappen van de dierproef. Welke technische handelingen uitgevoerd worden, welke observaties er gedaan worden om eventueel toegenomen ongemak tijdig op te merken, acties die men voorziet te ondernemen bij het bereiken van vooraf bepaalde humane eindpunten.

F98 GB INOCULATIE

Voor het inbrengen van tumorcellen worden de ratten verdoofd met behulp van een mengsel van 74mg/kg ketamine en 11mg/kg xylazine via een IP injectie (max. 1mL, 29G insulienaald). Om uitdroging van de ogen te voorkomen, wordt een oogcrème aangebracht. Vervolgens wordt de vacht van de schedel verwijderd en de hoofdhuid gedesinfecteerd met povidonjood. Het dier wordt gefixeerd aan de neus en de oren waarna de schedel wordt blootgelegd met een middenlijn incisie en een 1mm opening (2mm posterior en 2.5mm lateraal t.o.v. bregma in de rechter frontale hemisfeer) gemaakt met een diamantboor. Vervolgens wordt een geleide insulienaald (29G) ingebracht en 5µL cel suspensie (20 000 F98 GB cellen) 3mm diep met behulp van een 'microsyringe pump controller' (5nL/s) geïntroduceerd. Daarna wordt de spuit traag teruggetrokken en de opening gedicht met behulp van 'bone wax'. Vervolgens wordt de huid dichtgenaaid en met povidonjood gedesinfecteerd. Daarna wordt toezicht gehouden over het dier tot het ontwaakt en warm gehouden met behulp van een infrarood lamp.

BEVESTIGING VAN TUMORGROEI (8 DAGEN NA INOCULATIE)

Na verdoving (inductie 5% isofluraan gemengd met zuurstof, onderhoud 2% isofluraan gemengd met zuurstof), wordt eerst een 30G naald met een 60cm lange tube intraveneus in de staartader aangebracht. Daarna wordt de rat overgebracht naar het MR toestel waar het wordt bedekt met een verwarmd dekentje en oogcrème wordt aangebracht. Vervolgens worden een aantal MR-scans uitgevoerd. Bij vermoeden van tumordetectie wordt een 'dynamic contrast-enhanced MRI' (DCE-MRI) uitgevoerd met behulp van een gadolinium-bevattende contraststof. Na de scans kan het dier onder toezicht ontwaken tot het volledig bewustzijn terugkeert.

PET-BEELDVORMING

Na verdoving van het dier (isofluraan) wordt een katheter (26G) in de staartader gebracht en 37MBq (max. 200µL) van de PET-tracer geïnjecteerd. Tijdens de verdeling van de PET-tracer worden de MR-beelden met behulp van contrastmiddel opgenomen (zie hierboven). Daarna volgt de PET-beeldvorming (statische scan, 30min).

RADIOTHERAPIE

Tijdens deze procedure wordt het dier opnieuw verdoofd met behulp van isofluraan. Voor de opmaak van het radiotherapiebehandelplan wordt eerst een 'planning CT' m.b.v. het Small Animal Research Radiation Platform (SARRP) uitgevoerd. Door de incorporatie van de vooraf opgenomen beelden (MRI, PET of MRI+PET) wordt het radiotherapiebehandelplan opgemaakt. Onmiddellijk na het uitvoeren van het radiotherapieplan wordt de gasanesthesie gestopt en mag het dier wakker worden.

CHEMOTHERAPIE

Om de behandeling van GB bij humane patiënten na te bootsen wordt temozolomide (29mg/kg, opgelost in zoutoplossing met 25% dimethylsulfoxide, max. 1mL, 29G insulienaald) intraperitoneaal geïnjecteerd gedurende vijf dagen.

b) Ernstgraad van de dierproef

- i) *Classificatie van de dierproef overeenkomstig de ernstgraad : preciseer hoe die ernstgraad werd ingeschat. Het is aanbevolen het "document on a severity assessment framework" te raadplegen op de website van de Europese commissie:*
(http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/interpretation_en.htm)

Klasse					Aantal dieren per klasse en/of per experiment
terminaal	licht	matig	ernstig	in vitro	
			Tumorgroei in de hersenen is een ruimte-innemend proces en zal leiden tot gewichtsverlies en ongemak. Indien het lijden toeneemt, zullen de humane eindpunten in acht genomen worden.		330

- ii) Indien het gaat om dieren die opnieuw gebruikt worden:

- moet rekening worden gehouden met de werkelijke ernst van de voorgaande dierproeven waarin de dieren werden gebruikt:

klasse licht ☐

klasse matig ☐

- het cumulatieve effect van dit hergebruik op het dier :

nvt

- Heeft de deskundige die verantwoordelijk is voor de gezondheids- en welzijnstoestand van de dieren het nodige gunstige advies gegeven rekening houdende met de volledige levensloop van het proefdier en heeft de deskundige vastgesteld dat de algemene gezondheids- en welzijnstoestand van het dier dat hergebruikt wordt volledig is hersteld?

iii) Geef duidelijk aan hoe de *follow-up van het dierenwelzijn tijdens* de proeven gewaarborgd zal worden :

- Verantwoordelijke voor de follow-up van het dierenwelzijn : Vermeld hier het aantal personen dat verantwoordelijk is voor de dagelijkse follow-up van de dieren, hun naam en functie en contactgegevens, evenals de fase van de dierproef tijdens welke deze verantwoordelijk is voor die dagelijkse follow-up. Indien meer dan één follow-up per dag vereist is, verduidelijk dan wie wanneer verantwoordelijk is. *(alle proefdieren dienen dagelijks opgevolgd te worden, ook in weekends en op feestdagen!)*

Tijdens de inoculatie, radiotherapie en MRI- & PET-scans wordt het dierenwelzijn opgevolgd door de actieve deelnemers. Tussen de experimenten worden de dieren gehuisvest in het centraal animalarium van het UZ Gent.

Sam Donche: 09 332 52 49

Benedicte Descamps: 09 332 69 34

Centraal Animalarium (dierenverzorgers): 09 332 55 05

- Wijze waarop de follow-up van het dierenwelzijn tijdens de dierproef gewaarborgd wordt : vermeld hier de criteria voor de evaluatie van het dierenwelzijn. Indien een "score"rooster wordt gebruikt, moet dit worden bijgevoegd.

Het welzijn van de dieren wordt dagelijks gecontroleerd volgens de richtlijnen van het EU i.v.m. proefdiergebruik. Het fysiek voorkomen (gewicht), vitale functies, omgeving, gedrag (algemeen welzijn, alertheid, grooming en posturale houding, gedrag in groep...) en andere observaties die ernstig lijden indiceren worden beoordeeld. Bovendien zullen de regelmatige MR-scans een precies beeld geven over de grootte en de locatie van de hersentumor en zo een verklaring of voorspelling van de toestand van het proefdier kunnen geven.

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/interpretation_en.htm

iv) - Geef aan welke methoden (vb. analgetica, anesthesie, conditionering/training,...) worden gebruikt om het ongemak (pijn, lijden, angst) dat de dieren ondergaan te verminderen of uit te schakelen (vb. analgetica, anesthesie, conditionering/training,...):

De inoculatie van tumorcellen, radiotherapie en MRI- & PET-beeldvorming worden allen uitgevoerd onder volledige verdoving (isofluraan) om stress te reduceren.

- Indien analgetica / anesthetica / ontstekingsremmers / antibiotica gebruikt worden: Geef de *lijst van medicatie, evenals de dosis, toedieningsweg, duur en frequentie ervan*. Preciseer ook *welke referenties geraadpleegd werden om de meest aangewezen methode van analgesie/anesthesie te kiezen (bibliografische referentie, naam en functie van de persoon die geraadpleegd werd)*:

Medicatie : isofluraan

Toedieningswijze : inademing

Dosis : 5% inductie, 2% onderhoud, gemengd met zuurstof

Duur: sessies van 1 à 2h (afhankelijk van de handeling)

Frequentie: ±6x voor MRI-beeldvorming, 1x PET-beeldvorming, 1x radiotherapie

Wie voert de anesthesie uit en wat is zijn/haar functie ? Sam Donche (proefleider, onderzoeker),

Benedicte Descamps (actieve deelnemer)

Medicatie : ketamine + xylazine

Toedieningswijze : intraperitoneaal

Dosis : resp. 74 en 11mg/kg

Duur: sessie van ±1h

Frequentie: 1x voor tumorcel inoculatie

Wie voert de anesthesie uit en wat is zijn/haar functie ? Sam Donche (proefleider, onderzoeker),

In verband met anesthesie en pijnbestrijding: geef de referenties van de geconsulteerde literatuur terzake:

- ☒ Van Zutphen L.F.M., Baumans V., Beynen A.C. 1993. Principles of Laboratory Animal Science: Doses of analgesics for post-operative pain relief ; Rodent, Dog, cat, ferret and larger species, birds, reptiles, amphibians and fish anaesthetic dose rates;

- ☒ Flecknell P. (1996). Laboratory Animal Anaesthesia - A Practical Introduction for Research Workers and Technicians. 2nd edition. Academic Press, London, p.15-73; p.245-246.
- ☐ Andere:

- Geen enkele proef die leidt tot een ernstige mate van pijn, lijden of angst dat vermoedelijk lang zal duren en dat niet kan worden verminderd, is toegestaan. Indien de doelstelling van de proef het toch nodig acht dat een ernstige mate van pijn, lijden of angst niet kan verminderd of uitgeschakeld worden, dan dient u hier de wetenschappelijk verantwoorde redenen te beschrijven die een aanvraag tot vrijstelling rechtvaardigen.

nvt

c) Stoppen van de dierproef en bestemming van de dieren

i) Eindpunten:

- Geef voor de betrokken dieren de eindpunten aan die voldoende vroegtijdig zijn om de pijn te beperken zonder aan de resultaten van het project te raken. Deze humane eindpunten moeten vastgelegd worden. Om de eindpunten te bepalen moet men zich baseren op de criteria voor de evaluatie van het dierenwelzijn (cf. b)/iii/2^e alinea):

Aan de hand van MRI scans kan er op basis van de tumorgrootte (tumor > 40% van het totale hersenvolume, Lui et al. 2014) beslist worden om het dier te euthanaseren. Deze beslissing gebeurt voor het optreden van klinische tekenen zoals ataxia, waardoor het dier nietodeloos hoeft te lijden. De beeldvorming zal in belangrijke mate meespelen of een dier voortijdig uit studie moet gehaald worden, bij voorkeur dus vooraleer er een verminderde respons is op externe stimuli of het dier inactief is. Indien het dier continu een opgetrokken houding of een gewichtsverlies van meer dan 20% vertoont zal het dier eveneens geëuthanaseerd worden.

- Indien op voorhand een pilootstudie werd uitgevoerd om de eindpunten van het project te bepalen, beschrijf dan deze pilootstudie met goedkeuring ECD:

ECD nr: 12/28 aanv2

Datum goedkeuring: 06/01/2014

Bij inoculatie van een graad IV hersenglioma werden de dieren binnen de 30 dagen geëuthanaseerd om onnodig lijden te vermijden. Binnen deze tijd trad er geen onnodig lijden op en was de tumor toch groot genoeg (min. 2.5x2.5x2.5mm) om een bestralingsplan op te zetten.

ii) Doden:

Enkel de procedures opgenomen in bijlage 7 van het koninklijk besluit van 29 mei 2013 zijn toegelaten om proefdieren te doden.

- Preciseer de betrokken dieren en duidelijk de voorziene methode(n) om het dier te doden en de dood te bevestigen:

Welke dieren?	Wie?	Methode doden	Bevestiging dood
Alle proefdieren na afloop van de proef	Sam Donche	Nembutal, overdosis IV	Afwezigheid reflex, stop ademhaling, stop hartslag

iii) Dieren die in leven worden gehouden:

De eindbeslissing om een dier na gebruik in een dierproef in leven te houden kan enkel genomen worden door de deskundige die verantwoordelijk is voor het welzijn en de gezondheidstoestand van de dieren.

- Indien reeds gekend preciseer de betrokken dieren en hun bestemming (vb. hergebruik, adoptie, vrijlating):

nvt

- Indien ze in leven worden gehouden voor een adoptie of vrijlating, preciseer dan het type adoptie of vrijlating, de gevolgde procedure en, in voorkomend geval, het opgezette socialisatieprogramma:

nvt
