

Leucine suppletie ter vermindering van skeletspier atrofie tijdens kort durende immobilisatie

Gepubliceerd: 30-12-2015 Laatst bijgewerkt: 19-03-2025

Primaire doelen1. Het bepalen van de impact van een kort durende (3 dagen) been immobilisatie op de *cummulatieve* snelheid van spiereiwit synthese in jonge en oudere volwassenen.2. Bepalen of leucine suppletie de vermindering in cummulatieve...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Eiwit- en aminozuurmetabolismestoornissen NEG
Onderzoekstype	Interventie onderzoek

Samenvatting

ID

NL-OMON45771

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

REALISM

Aandoening

- Eiwit- en aminozuurmetabolismestoornissen NEG
- Spieraandoeningen

Synoniemen aandoening

Spiereiwit turnover; Spiereiwit synthese en afbraak

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Maastricht University

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Immobilisatie, Leucine, Spiereiwit afbraak, Spiereiwit synthese

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Primaire studie parameter/uitkomstmaat

De primaire studie parameter is de cumulatieve FSR als een maat van de snelheid van spiereiwitsynthese gebaseerd op de orale tracer deuterium oxide. Om de cumulatieve FSR te bepalen zullen de volgende parameters respectievelijk gemeten worden via GC-C-IRMS en GCMS:

- Spiereiwit gebonden L-[2,3,3,3-2H₄]-alanine verrijking (uitgedrukt als MPE)
- Plasma vrij L-[2,3,3,3-2H₄]-alanine verrijking (uitgedrukt als MPE)
- Speeksel 2H₂O verrijking (uitgedrukt als MPE)

Secundaire uitkomstmaten

Secundaire parameters/uitkomstmaten

Secundaire uitkomstmaten omvatten:

- oppervlakte van de dwarsdoorsnede van de quadriceps via CT scan
- Plasma, spier vrij en spiereiwit gebonden L-[ring-13C₆]-phenylalanine verrijking
- Fractionele synthese snelheid (FBR) van spiereiwitten gebaseerd op 3,3-D₂ phenylalanine tracer verdunning in plasma en de spier.
- Fractionele synthese snelheid (FBR) van spiereiwitten gebaseerd op L-[ring-13C₆]-phenylalanine tracer incorporatie in spiereiwitten
- Activatie van signaalmoleculen die de spiereiwitsynthese en *afbraak

reguleren zullen bepaald worden met Western blots. Kwantitatieve Real-Time PCR

analyse van MAFbx/Atrogin-1, MuRF1, FoxO en Ubiquitin expressie zullen ook uitgevoerd worden.

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Blessures, ziekte en het herstel hiervan gaan gepaard met perioden waarbij de skeletspieren niet gebruikt worden. De inactiviteit tijdens deze perioden resulteert in een verlies van skeletspier massa (1), welke een negatieve invloed heeft op de gezondheid, waaronder een afname in kracht (1), ontwikkeling van insuline resistentie (2), een afname in basaal metabolisme (basal metabolic rate) (3), en een toename van lichaamsvet (4). Deze condities zijn geassocieerd met vroegtijdige fysieke kwetsbaarheid (5), een toename in de kosten van de gezondheidszorg (5), en een verhoogd risico op sterfte (6). Het gebrek aan het gebruiken van de spieren vormt een groot gezondheidsprobleem voor de ouderen, die al een verhoogd risico hebben op sarcopenie, of een verlies in leeftijd gerelateerd verlies in skeletspier massa en kracht (7). Perioden waarbij de skeletspieren niet worden gebruikt zijn veel voorkomend bij ouderen, en representeren een periode van *katabole crisis* welke de ontwikkeling van sarcopenie versnellen (7). Ouderen (>60 jaar) zijn de snelst groeiende leeftijdsgroep. Er wordt voorspeld dat tegen 2050 ~21% van de wereldbevolking tot deze leeftijdsgroep zal behoren (8). Populatiestudies tonen aan dat >20% van de bevolking tussen de 60-70 leiden aan sarcopenie en ~50 van de bevolking >75 jaar (9). De gezondheidskosten toe te schrijven aan sarcopenie bedroegen ~\$18.5 miljard in 2000 (8). Het is duidelijk van essentieel belang om effectieve strategieën te ontwikkelen om het verlies van spiermassa en kracht, als gevolg van het niet gebruiken van de spieren tegen te gaan. Dit om een epidemie van fysieke kwetsbaarheid en een verlies van zelfstandigheid bij ouderen te voorkomen alsmede het risico op ziekte en sterfte te verminderen. Humane inactiviteit/immobilisatie studies zijn uitgevoerd in jonge gezonde proefpersonen over perioden van meer dan 10 dagen (10). Deze studies hebben laten zien dat 10-42 dagen van inactiviteit leiden tot een verlies in spierkracht van 0.3-4.2% per dag (10). Echter het verlies in spiermassa als gevolg van inactiviteit vindt voornamelijk plaats in het vroege stadium van een periode van inactiviteit (7). Hiertoe leiden slechts 5 dagen van inactiviteit al tot een substantieel verlies van spiermassa (11). Dit is een groot probleem voor ouderen aangezien voorheen is aangetoond dat het verlies in spiermassa en functie als gevolg van 14 dagen immobilisatie nog niet volledig is hersteld na 4 weken met intensieve krachttraining (12). Hiertoe hebben we voorheen aangetoond dat slechts 5 dagen van immobilisatie in oudere mannen resulteert in een 1,5% verlies in de oppervlaktEDOORSNEDEN (cross sectional area) van de quadriceps (13). Op heel lichaamsniveau zou dit betekenen dat 5 dagen van

bedrust zou resulteren in een spierverlies van ~1kg. Dus zelfs als men voor ~80% zou herstellen van dit spierverlies, na 2 korte periodes van ziekte/blessure op een jaar zou men toch nog ~400g spier verliezen. Dit zou resulteren in een spiervmassaverlies van 0.8% per jaar en voor een groot gedeelte bijdragen aan het geschatte spiervmassaverlies van 1-2% per jaar na het 50ste levensjaar (14). Momenteel is er weinig bekend over de fysiologische mechanismen die spieratrofie veroorzaken tijdens korte periodes van inactiviteit. Spiervmassa wordt bepaald door de balans tussen de snelheid van spiereiwwitsynthese (SES) en spiereiwwitafbraak (SEA). Wanneer SEA groter is dan SES, zal dit resulteren in een negatieve balans van de eiwitten en zorgen voor spiervmassa verlies. Anabole stimulatie door voedingsstoffen, voornamelijk eiwitten, zijn fundamenteel voor het behouden van skeletspiervmassa, daar deze de toename in spiervmassa reguleren. Echter afnames in basale en postprandiale SES zijn waargenomen na 5-42 dagen van bedrust en been immobilisatie (10). Echter, het is onduidelijk of er ook veranderingen plaatsvinden in SEA, daar er een gebrek is aan metingen van SEA tijdens inactiviteit. Door het gebrek aan metingen van SEA hebben studies gekeken naar bewijs voor een verhoogde activiteit van het ubiquitine-proteasoom systeem na inactiviteit als een indicator voor een toename SEA (10). Dit systeem en zijn enzymen zijn geactiveerd onder katabole omstandigheden. Echter, inconsistente moleculaire bevindingen, evenals een gebrek aan data betreffende SEA, maken het moeilijk om duidelijk vast te stellen wat de bijdrage is van SEA aan spier atrofie tijdens inactiviteit. Het aminozuur leucine wordt beschouwd als een unieke voedingsstof welke spiereiwwit metabolisme reguleert door SES te stimuleren en SEA te inhiberen door proteasomale afbraak te onderdrukken (15). Leucine blijkt spieratrofie in diermodellen te inhiberen, deels door een afname van SEA (15). Echter, er is geen informatie beschikbaar over de impact van leucine suppletie op dynamische metingen van SES en SEA, markers van het ubiquitine-proteasoom systeem en skeletspiervmassa tijdens inactiviteit bij mensen.

REFERENTIES

1. Deitrick JE. The effect of immobilization on metabolic and physiological functions of normal men. *Bulletin of the New York Academy of Medicine* 1948;24(6):364-75.
2. Stuart CA, Shangraw RE, Prince MJ, Peters EJ, Wolfe RR. Bed-rest-induced insulin resistance occurs primarily in muscle. *Metabolism: clinical and experimental* 1988;37(8):802-6.
3. Haruna Y, Suzuki Y, Kawakubo K, Yanagibori R, Gunji A. Decremental reset in basal metabolism during 20-days bed rest. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum* 1994;616:43-9.
4. Ferrando AA, Lane HW, Stuart CA, Davis-Street J, Wolfe RR. Prolonged bed rest decreases skeletal muscle and whole body protein synthesis. *The American journal of physiology* 1996;270(4 Pt 1):E627-33.
5. Strawbridge WJ, Shema SJ, Balfour JL, Higby HR, Kaplan GA. Antecedents of frailty over three decades in an older cohort. *The journals of gerontology Series B, Psychological sciences and social sciences* 1998;53(1):S9-16.

6. Metter EJ, Talbot LA, Schrager M, Conwit R. Skeletal muscle strength as a predictor of all-cause mortality in healthy men. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences* 2002;57(10):B359-65.
7. English KL, Paddon-Jones D. Protecting muscle mass and function in older adults during bed rest. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 2010;13(1):34-9. doi: 10.1097/MCO.0b013e328333aa66.
8. Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, Roubenoff R. The healthcare costs of sarcopenia in the United States. *Journal of the American Geriatrics Society* 2004;52(1):80-5.
9. Berger MJ, Doherty TJ. Sarcopenia: prevalence, mechanisms, and functional consequences. *Interdisciplinary topics in gerontology* 2010;37:94-114. doi: 10.1159/000319997.
10. Wall BT, Dirks ML, van Loon LJ. Skeletal muscle atrophy during short-term disuse: implications for age-related sarcopenia. *Ageing research reviews* 2013;12(4):898-906. doi: 10.1016/j.arr.2013.07.003.
11. Wall BT, Dirks ML, Snijders T, Senden JM, Dolmans J, van Loon LJ. Substantial skeletal muscle loss occurs during only 5 days of disuse. *Acta Physiol (Oxf)* 2014;210(3):600-11. doi: 10.1111/apha.12190.
12. Suetta C, Hvid LG, Justesen L, Christensen U, Neergaard K, Simonsen L, Ortenblad N, Magnusson SP, Kjaer M, Aagaard P. Effects of aging on human skeletal muscle after immobilization and retraining. *J Appl Physiol* 2009;107(4):1172-80. doi: 10.1152/jappphysiol.00290.2009.
13. Dirks ML, Wall BT, Nilwik R, Weerts DH, Verdijk LB, van Loon LJ. Skeletal muscle disuse atrophy is not attenuated by dietary protein supplementation in healthy older men. *The Journal of nutrition* 2014;144(8):1196-203. doi: 10.3945/jn.114.194217.
14. Nair KS. Aging muscle. *The American journal of clinical nutrition* 2005;81(5):953-63.
15. Dodd KM, Tee AR. Leucine and mTORC1: a complex relationship. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism* 2012;302(11):E1329-42. doi: 10.1152/ajpendo.00525.2011.

Doel van het onderzoek

Primaire doelen

1. Het bepalen van de impact van een kort durende (3 dagen) been immobilisatie op de *cummulatieve* snelheid van spiereiwit synthese in jonge en oudere volwassenen.
2. Bepalen of leucine suppletie de vermindering in cummulatieve spiereiwitsynthese en spiermassa als gevolg van 3 dagen immobilisatie kan voorkomen in jonge en oudere volwassenen.
3. Bepalen of spiereiwitafbraak verhoogd is en spiereiwit synthese verminderd is in nuchtere toestand na 3 dagen van inactiviteit door immobilisatie in jonge volwassenen.
4. Bepalen of leucine suppletie spiereiwitafbraak kan verminderen, spiereiwitsynthese kan verhogen en het verlies in spiermassa tijdens 3 dagen

immobilisatie in jonge volwassenen kan verminderen.

Hypothesen

1. In zowel jonge als oudere volwassenen zal 3 dagen van inactiviteit door immobilisatie van een been resulteren in spieratrofie welke ook gepaard gaan met een afname in de snelheid van *cumulatieve* spiereiwitsynthese tijdens ziekte.
2. In zowel jonge als oudere volwassenen zal leucine suppletie tijdens 3 dagen van inactiviteit door immobilisatie van een been resulteren in een vermindering van de daling in de cumulatieve spiereiwitsynthese en het verlies van spiermassa.
3. 3 dagen van inactiviteit door immobilisatie van een been zal resulteren in een toename van de snelheid van spiereiwitafbraak en een afname van de snelheid in spiereiwitsynthese in nuchtere jonge volwassenen.
4. Leucine suppletie tijdens 3 dagen van inactiviteit door immobilisatie van een been zal resulteren in een vermindering van zowel de toename van de snelheid van spiereiwitafbraak als de afname van de snelheid in spiereiwitsynthese, in nuchtere jonge volwassenen.

Onderzoeksopzet

Study Design

Vierentwintig (12 mannen en 12 vrouwen) jongere (18 tot en met 35 jaar) en vierentwintig (12 mannen en 12 vrouwen) oudere (60 tot en met 80 jaar) zullen gevraagd worden om 3 dagen een been te laten immobiliseren. De proefpersonen zullen matig actief zijn, maar geen structureel trainingsprogramma aan het volgen zijn. De volgende exclusiecriteria zullen worden gehandhaafd: klachten/blessures aan de benen en/of rug, een geschiedenis van trombose/cardiovasculaire ziekten, gebruik van anticoagulantia, skeletspier/orthopedische afwijkingen, het structureel uitvoeren van krachttraining, gebruik van corticosteroïden, gebruik van eiwitsupplementen tijdens de studie, diabetes, zwangerschap, hormoon vervangingstherapie, derde generatie orale anticonceptiva en gebruik van tabaksproducten. De volgende inclusiecriteria worden gehandhaafd: matig actief (zie hierboven), man of vrouw in de leeftijd van 18 tot en met 35 of 60 tot en met 80 jaar en een BMI tussen de 18.5 en 30 (inclusief).

Screening

Proefpersonen die op de advertentie reageren zullen via telefoon/e-mail geïnformeerd worden over de study. Tevens zullen we hen voorzien met de informatiebrochure en toestemmingsverklaring welke ze zullen meenemen naar de screening.

Om te bepalen of de proefpersonen geschikt zijn om deel te nemen aan dit onderzoek, zullen zij worden uitgenodigd voor een screeningsbezoek op de universiteit. Voordat de screening start zullen we alle testen en metingen die

worden uitgevoerd aan hun uitleggen en eventuele vragen beantwoorden. We zullen hun vragen het toestemmingsformulier te lezen, in te vullen en te tekenen. Nadat de proefpersoon het toestemmingsformulier heeft getekend, zullen we de screening starten. Hiertoe zal de medische vragenlijst worden overlopen om zo een algemeen beeld te krijgen van hun algemene gezondheid, gebruik van medicatie en fysieke activiteit. De vrijwilligers zullen geïnstrueerd worden over het juiste gebruik van de elleboogkrukken, dat men het geïmmobiliseerd been niet mag belasten en de contractie van het geïmmobiliseerde been dient te minimaliseren. Tevens zullen we lichaamsgewicht, lengte en bloeddruk bepalen. De medische vragenlijst zal zorgvuldig doorgenomen worden door de verantwoordelijke arts voordat de proefpersoon deel kan nemen aan het onderzoek. Het screeningsbezoek zal ongeveer 1,5 uur in beslag nemen. Na de screening zullen indien van toepassing (schriftelijke toestemming getekend en toelaatbaar op basis van inclusie/exclusie criteria) de testdagen (Testdag #1, #2 en #3) gepland worden. Er wordt getracht deze testdagen zo snel mogelijk in te plannen, afhankelijk van de beschikbaarheid van de proefpersonen. Echter, proefpersonen dienen 3 dagen voorafgaand aan testdag #1 het voedingsdagboek in te vullen en de Actical activiteitenmonitor te dragen, hiermee zal rekening gehouden worden bij het inplannen van deze testdagen.

Dieet en activiteit voor de testdag

Alle proefpersonen zullen een standaard avondmaaltijd eten de avond voordat het been wordt geïmmobiliseerd (Testdag #2). Tevens zullen de jonge proefpersonen een standaard maaltijd eten de avond voor het onderzoek met de ¹³C6 aminozuur tracer (Testdag #3). Deze standaard maaltijd is een *Aviko maaltijdpannetje* en zal gekocht worden bij een supermarkt in Maastricht. De vervaldatum van de fabrikant zal gecontroleerd worden. De maaltijden zullen tot die tijd opgeslagen worden in een daarvoor bestemde vriezer in de keuken van de afdeling humane biologie. De exacte samenstelling en bereiding zijn omschreven op het label van de verpakking. Alle proefpersonen zullen ook gevraagd worden om hun voedingsinname voor de 3 dagen direct voor immobilisatie en voor de 3 dagen tijdens immobilisatie te noteren in een voedingsdagboek welke verstrekt zal worden tijdens de screening. Tevens zullen alle proefpersonen gevraagd worden om een Actical fysieke activiteitenmonitor (Philips) te dragen en een activiteitendagboek in te vullen om hun fysiek activiteitenpatroon voor de 3 dagen voorafgaand aan immobilisatie en de 3 dagen tijdens immobilisatie te registreren. Tenslotte zullen alle proefpersonen geïnstrueerd worden om geen zware fysieke inspanningen te verrichten en hun dieet zo constant mogelijk te houden voor de 3 dagen voor en de 3 dagen tijdens immobilisatie.

Baseline Tests * (Testdag #1)

Voordat de immobilisatieperiode start zullen de proefpersonen enkele baseline metingen ondergaan. Proefpersonen zullen om 07:30 in gevaste toestand (na 22.00 de vorige avond niks meer gegeten of gedronken te hebben, behalve water) arriveren op het laboratorium. Een basale bloedafname en 3 speekselmonsters zullen verzameld worden om de achtergrond verrijking van 2H in het plasma en lichaamswater te bepalen. Proefpersonen zullen vervolgens beginnen gedeuteerd

water (deuterium oxide of $2H_2O$) te drinken volgens het volgende protocol: Proefpersonen zullen 50mL van 70 APE verrijkt gedeutereerd water innemen op 8 verschillende momenten om: 0800, 0930, 1100, 1230, 1400, 1530, 1700 en 1830 om een plateau in de verrijking van het lichaamswater te verkrijgen welke gelijk is aan ~1-2%. De proefpersonen hoeven alleen op het laboratorium te blijven voor de eerste 5 drankjes (0800, 0930, 1100, 1230, 1400); de overige kan men thuis innemen (1530, 1700, 1830). Nadien dienen de proefpersonen iedere ochtend (bij het opstaan) van de immobilisatie periode een 50mL dosis van 70 APE verrijkt gedeutereerd water in te nemen, om zodoende de 1-2 APE verrijking in lichaamswater te behouden. Tijdens dit bezoek zullen we ook de dwarsdoorsnede van beide benen bepalen door middel van een CT scan, spiermassa van het gehele lichaam bepalen d.m.v. MRI (magnetic resonance imaging), en lichaamssamenstelling door middel van een DEXA (dual-energy X-ray absorptiometry) scan. Tijdens de CT scan (IDT 8000; Philips Medical Systems, Best, Netherlands) zal er een enkele scan gemaakt worden 15cm boven de basis van de patella. Deze scan zal plaatsvinden in het Academische Ziekenhuis Maastricht (Afdeling Radiologie) om zo de dwarsdoorsnede van de bovenbeenspieren van beide benen te bepalen. Tijdens deze scan zullen de proefpersonen op hun rug liggen, met hun benen gestrekt en voeten vastgemaakt, dan zal er een 3mm dikke dwarsdoorsnede foto gemaakt worden. De scan karakteristieken zullen als volgt zijn: 120kV, 300mA, rotatietijd van 0.75 seconden, en een zichtveld van 500mm. De exacte scan positie zal opgemeten en gemarkeerd worden met een semi-permanente stift om deze te kunnen herhalen bij de metingen. Nadat de CT scan is gemaakt zullen de proefpersonen een MRI scan ondergaan van het gehele lichaam. Dit door middel van een 3 T MR systeem (Achieva 3Tx; Philips Healthcare); door gebruik te maken van een spoel welke radiofrequenties uitzend en ontvangt. De ontvanger heeft een bandbreedte van 31.25 kHz. Door gebruik te maken van een turbo spin echo sequentie met een proton *fliphoek* van 90 graden, zullen scans genomen worden op basis van proton dichtheid. Hierdoor zal een afbeelding gecreëerd worden welke de protondichtheid van elk type weefsel karakteriseert. De afbeeldingen zullen genomen worden door gebruik te maken van een matrix met 320-512 pixels en een 55cm gezichtsveld. Er zullen continue afbeeldingen van 10mm dikte worden gemaakt zonder dat er gebieden worden overgeslagen. Deze afbeeldingen zullen genomen worden in vier tot zes sequenties van 38-40 afbeeldingen voor specifieke lichaamsregio's van elke deelnemer. een DEXA scan ondergaan op de universiteit. Hiervoor zullen de proefpersonen gevraagd worden om met hun rug op de scantafel te gaan liggen en gedurende de scan (3 minuten) niet te bewegen. Deze hierboven genoemde metingen stellen ons in staat om de dwarsdoorsnede van de bovenbeenspieren van beide bovenbenen te bepalen evenals de lichaamssamenstelling van de proefpersonen. In geval van een medische toevalsbevinding zullen we de proefpersoon en zijn huisarts informeren. Indien de proefpersonen deze informatie niet willen ontvangen, kan hij/zij niet deelnemen aan het onderzoek. Dit bezoek zal ongeveer 6,5 uur duren.

Begin van immobilisatie * (Testdag #2)

De dag na Bezoek #1 zullen de proefpersonen om 07:30 in gevaste toestand (niks

meer gegeten of gedronken te hebben (behalve water) na de standaard avondmaaltijd, welke niet later dan 22.00 is gegeten) op het laboratorium arriveren. Proefpersonen zullen eerst gevraagd worden voor een speekselmonster, daarna zal er een bloedafname plaatsvinden en ten slotte een enkel spierbiopt worden afgenomen van de m. vastus lateralis van een been om zo de 2H verrijking van de spiereiwitten direct voor immobilisatie te bepalen. Dit biopt zal afkomstig zijn van het been dat niet geïmmobiliseerd wordt. Het spierbiopt zal afgenomen worden van de middelste regio van de m. vastus lateralis (15cm boven de patella en ongeveer 2 cm van het fascia) met behulp van de percutane naaldbiopsie techniek. Zichtbaar niet-spiersweefsel zal voorzichtig verwijderd worden van het biopt en vervolgens zal het biopt ingevroren worden met vloeibaar stikstof. Nadien worden die spierbiopten opgeslagen bij -80°C tot verdere analyse. Randomisatie zal bepalen welk been geïmmobiliseerd wordt. Na het biopt, zal het andere been geïmmobiliseerd worden door het in te gipsen van 10cm boven de enkel tot halverwege het bovenbeen met een kniehoek van 30 graden. Het gips zal er voor 3 dagen op blijven zitten. Daarna zal de vrijwilliger geïnstrueerd worden hoe hij/zij de elleboogkrukken moet gebruiken, dat het geïmmobiliseerd been niet belast mag worden en om spiercontracties van het bovenbeen tot een minimum beperkt moeten worden. Dit protocol is voorheen al met succes gebruikt in immobilisatie studies (METC 09-3-011, METC 11-3-073, METC 12-3-012, METC 12-3-063, METC 13-3-023). Door een been in te gipsen kan er zowel naar het geïmmobiliseerde als het niet-geïmmobiliseerde been binnen een persoon gekeken worden en dient iedere proefpersoon als zijn eigen interne controle. Nadat het been is ingegipst, zal de proefpersoon per taxi of auto naar huis worden gebracht. Dit bezoek zal ongeveer 2 uur duren.

Tijdens immobilisatie

Tijdens de 3 dagen van immobilisatie zal een van de leden van het onderzoeksteam regelmatig contact opnemen met de proefpersoon. Op deze momenten kunnen vragen of onduidelijkheden van de proefpersonen beantwoord worden en kan er gecontroleerd worden of men zich aan het protocol houdt. Alle proefpersonen kunnen ten alle tijden contact opnemen met de onderzoeker en/of arts om eventuele vragen of problemen gerelateerd aan de immobilisatie of deelname aan de studie te bespreken.

Tijdens de immobilisatieperiode zullen de proefpersonen doorgaan met het innemen van 2H₂O (50mL 1x 50mL per dag in de ochtend) om zo de verrijking in het lichaamswater op peil te houden en ook zal men een speekselmonster verzamelen (in de avond). Hiertoe worden de proefpersonen voorzien met plastic salivette flacons welke katoenen watjes bevatten om het speeksel te verzamelen. De proefpersoon zal gevraagd worden om op het katoenen watje te kauwen voor 30-60 seconden, totdat het watje verzadigd is met speeksel. Daarna zullen ze het watje terug plaatsen in de salivette flacon, het opslaan in hun vriezer en voor het volgende bezoek meenemen naar de universiteit. Tijdens immobilisatie zullen proefpersonen een leucine of koolhydraat (maltodextrine) supplement innemen (dubbel-blind) bij elke maaltijd (ontbijt, lunch, avondeten). Tijdens elk van deze momenten dient men 5.0g leucine of koolhydraten in te nemen (totaal 15g per dag).

Einde van immobilisatie * Testdag #3

Oudere Proefpersonen

In de ochtend, na 3 dagen (of 72 uur) immobilisatie, zullen de proefpersonen naar de universiteit komen voor het laatste bezoek. Allereerst zal het gips verwijderd worden, echter het is niet toegestaan dat de deelnemer het voorheen geïmmobiliseerde been belast. Daartoe worden de proefpersonen per rolstoel naar de CT scanner gebracht waar er een CT scan gemaakt wordt zoals hierboven beschreven. Daarna zullen de proefpersonen per rolstoel naar het laboratorium worden gebracht waar er 2 spierbiopten worden afgenomen; een van het geïmmobiliseerde been en een van het andere been. Het biopt van het geïmmobiliseerde been zal dus worden afgenomen terwijl het been nog steeds niet belast is (dus de spieren hebben nog geen gewicht gedragen). Met de twee biopten zal de cumulatieve (3 daagse) spiereiwsynthese snelheid in beide benen (geïmmobiliseerd en niet geïmmobiliseerd) bepaald kunnen worden op basis van de verandering in de verrijking van het spiereiwit gebonden 2H bepaald in het spierbiopt van voor de immobilisatie. Ook zullen er bloed en speeksel monsters afgenomen worden om de 2H verrijking in het plasma en lichaamswater te bepalen. In totaal zullen de oudere proefpersonen 3 spierbiopten ondergaan en zullen er 3 bloed samples worden afgenomen (3x8mL = 24mL in totaal). Dit bezoek zal ongeveer 2 uur duren.

Jonge proefpersonen

In de ochtend, na 3 dagen (of 72 uur) immobilisatie, zullen de proefpersonen naar de universiteit komen voor het laatste bezoek. Allereerst zal het gips verwijderd worden, echter het is niet toegestaan dat de deelnemer het voorheen geïmmobiliseerde been belast. Daartoe worden de proefpersonen per rolstoel naar de CT scanner gebracht waar er een CT scan gemaakt wordt zoals hierboven beschreven. Daarna zullen de proefpersonen per rolstoel naar het laboratorium worden gebracht waar men een geprimed constant infuus van L-[ring-13C6] phenylalanine zal ondergaan voor 5 uur. 2 uur na de start van het infuus zal er bij de proefpersoon 2 spierbiopten worden afgenomen; een van het geïmmobiliseerde been en een van het andere been. Het biopt van het geïmmobiliseerde been zal dus worden afgenomen terwijl het been nog steeds niet belast is (dus de spieren hebben nog geen gewicht gedragen). Met de twee biopten zal de cumulatieve (3 daagse) spiereiwsynthese snelheid in beide benen (geïmmobiliseerd en niet geïmmobiliseerd) bepaald kunnen worden op basis van de verandering in de verrijking van het spiereiwit gebonden 2H bepaald in het spierbiopt van voor de immobilisatie. Ook zullen er bloed en speeksel monsters afgenomen worden om de 2H verrijking in het plasma en lichaamswater te bepalen. Voor de groep met jongere proefpersonen zullen deze biopten ook gebruikt worden om de waarden van intracellulair vrij en eiwitgebonden L-[ring-13C6] phenylalanine en de baseline 3,3-D2 phenylalanine verrijking te meten in de spier en om zodoende spiereiwitafbraak te bepalen door gebruik te maken van de *tracee-release* methode. Meteen na deze twee biopten zullen de proefpersonen een geprimde *continue infusie van 3,3-D2 phenylalanine ondergaan voor 2 uur. Daarna zal het 3,3-D2 phenylalanine infuus gestopt worden om het verval in 3,3-D2 phenylalanine in het bloed en de spier (intracellulair vrij en amino zuur pool) te bepalen. Hiertoe zullen 40 min na dat het 3,3-D2

phenylalanine infuus gestopt is een 2de set biopten worden afgenomen van elk been om de intracellulair vrije en proteïne gebonden L-[ring-13C6] phenylalanine en 3,3-D2 phenylalanine verrijking te meten in de spier. 60 minuten na het stoppen van het 3,3-D2 phenylalanine infuus zullen de laatste 2 biopten afgenomen worden, wederom van ieder been een. Dit om de verdunning in de verrijking van intracellulair vrij 3,3-D2 phenylalanine en de verrijking van L-[ring-13C6] phenylalanine te bepalen. Bloedsamples zullen tijdens de eerste 4 uur om het uur worden afgenomen om de verrijking van L-[ring-13C6] phenylalanine en 3,3-D2 phenylalanine in het bloedplasma te meten. Tijdens de periode waarin het verval in de verrijking van 3,3-D2/phenylalanine wordt bepaald wordt er tijdens het laatste uur om de 10 minuten bloed afgenomen om de 3,3-D2 verrijking in het bloed te bepalen. In totaal zullen er bij de jongere proefpersonen 7 biopten en 13 bloedsamples (13x8mL = 104mL totaal) worden afgenomen. Hierbij dient het 2de bloedsample in de 72 uur immobilisatie periode ook als het eerste bloedsample in de acute trail. Dit bezoek zal ongeveer 7 uur duren.

Onderzoeksproduct en/of interventie

3 dagen immobilisatie door het ingipsen van een been Een been zal voor 3 dagen geïmmobiliseerd worden onder een kniehoek van 30 graden flexie door middel van ingipsen. Het been te immobiliseren wordt toegewezen door randomisatie waarbij er een gelijk aantal links en rechts worden geïmmobiliseerd. Doordat slechts 1 gewricht geïmmobiliseerd wordt, is het niet nodig profylactische medicatie (om trombose te voorkomen) te gebruiken. Echter om het risico op trombose nog verder te verminderen zullen alle proefpersonen dagelijks oefeningen moeten uitvoeren om zo de >kuitspierpomp> te activeren. De tijd die nodig is om deze oefeningen uit te voeren is 5 minuten. De oefeningen zullen 3 keer per dag (ochtend, middag en avond) worden uitgevoerd gedurende de 3 dagen immobilisatie. Proefpersonen zullen elleboogkrukken mee naar huis krijgen omdat het niet toegestaan is om get geïmmobiliseerde been te belasten. De proefpersonen zullen geïnstrueerd worden over het juist gebruik van de elleboogkrukken. Ondanks deze instructies, zullen de proefpersonen hoogst waarschijnlijk in grote mate fysiek beperkt zijn. Activiteiten zoals het besturen van een auto en of fiets en sporten zullen niet mogelijk zijn. Voor andere activiteiten zoals reizen en trappen lopen heeft men mogelijk assistentie nodig. Het is alleen toegestaan om te lopen met de krukken, zonder het geïmmobiliseerde been te belasten. In het algemeen is het belangrijk te vermelden dat gedurende de immobilisatie periode de proefpersonen sterk beperkt zullen zijn in hun fysieke mobiliteit. Nadat het gips is verwijderd is het mogelijk dat men enkele effecten van een afname in spiermassa en kracht ervaart in hun geïmmobiliseerd been. De normale mobiliteit en alledaagse activiteiten zullen niet langer beperkt zijn, echter kan de sportprestatie verminderd zijn voor 2-14 dagen. Tijdens de immobilisatie- en herstelperiode zal de onderzoeker regelmatig contact hebben met de deelnemer om zodoende vragen of problemen te beantwoorden. Tijdens de herstelperiode hebben de proefpersonen ten alle tijden de mogelijkheid om contact te zoeken met de onderzoeker en arts om eventuele problemen gerelateerd aan de immobilisatieperiode te bespreken. Aangezien de korte herstelperiode (3 dagen), verwachten we dat de spiermassa en functie vanzelf zullen herstellen binnen een aantal weken nadat het gips is verwijderd. Leucine Tijdens de immobilisatie periode zullen de proefpersonen flesjes ontvangen welke 5g leucine

of koolhydraten (maltodextrine) bevatten (dubbel-blind). De proefpersonen dienen deze supplementen in te nemen bij elke maaltijd (ontbijt, lunch, avondmaaltijd) voor een totaal van 15g (3 flesjes) per dag.

Inschatting van belasting en risico

De risico's die gepaard gaan met deelname aan dit onderzoek zijn minimaal. Indien een proefpersoon geïnteresseerd is, krijgt hij/zij zijn individuele resultaten toegestuurd. De proefpersonen zullen een vergoeding krijgen voor hun tijdsinvestering en de lasten van de studie. Daarnaast zijn er geen bijkomstige voordelen verbonden aan deelname in dit onderzoek.

De insisie die gemaakt wordt voor het afnemen van het spierbiopt zal onder lokale verdoving plaatsvinden en uitgevoerd worden door een ervaren arts. Binnen onze onderzoeksgroep hebben we veel ervaring met het afnemen van spierbiopten. Er is een kleine kans op infectie en het spierbiopt kan leiden tot een klein hematoom. Tijdens de bloedafname is er een klein risico op flauwvallen of een hematoom. Deze risico's worden geminimaliseerd doordat de onderzoekers getraind en ervaren zijn in het afnemen van spierbiopten en bloed. Na de bloedafname en het spierbiopt zal er gepaste druk worden uitgeoefend om zo het risico op een hematoom te verminderen.

De Aviko maaltijd bevat normale voedingsproducten en is geschikt voor consumptie. Er zijn geen complicaties geassocieerd met het uitvoeren van een CT scan. De straling die hierbij vrijkomt is erg laag en bedraagt ongeveer 0,053 mSv per scan. Tijdens deze studie zullen de proefpersonen 2 CT scans ondergaan (voor en na de immobilisatie periode) en zullen daardoor blootgesteld worden aan 0,106 mSv. Deze scan worden routinematig uitgevoerd bij studies van onze groep (zie bijv. MEC 06-3-062, 11-3-073, 12-3-012). De DEXA scan zal gebruikt worden om de lichaamssamenstelling te bepalen. Proefpersonen zullen hierdoor blootgesteld worden aan 0,001 mSv. Ter vergelijking, wordt men in Nederland per jaar blootgesteld aan ~2.5 mSv aan achtergrondstraling. De MRI scan is niet invasief, echter kan men zich door het geluid van de scanner en het feit dat men op een "tafel/bed" in een kleine "tunnel" ligt als onprettig worden ervaren. Met Betrekking tot de tijdsinvestering dienen de proefpersonen de universiteit te bezoeken voor een screening (Bezoek #1) welke ongeveer 1,5 uur zal duren. Daarnaast zal de dag waarop de baseline metingen worden uitgevoerd (Bezoek #2) ongeveer 2 uur duren. De dag dat het been wordt ingegipst zal ongeveer 2 uur duren. Als laatste zal het laatste bezoek (#4) ongeveer 2 uur duren voor de ouderen en ongeveer 7 uur voor de jongere proefpersonen. Daarnaast zullen de proefpersonen gevraagd worden om voor in totaal 6 dagen (3 voor en 3 tijdens immobilisatie) een voedings- en activiteitendagboek in te vullen. Echter de 3 dagen immobilisatie van het been zal het grootste ongemak ten aanzien van tijd en mobiliteit zijn. Een been zal voor 3 dagen geïmmobiliseerd worden door het in te gipsen onder een kniehoek van 30 graden flexie. In een gezonde populatie zal trombose zich ontwikkelen in 1 op de 1000 individuen per jaar. Na een operatie of bot fractuur zal immobilisatie van 2 of meer gewrichten het risico op trombose verhogen. Het voorkomen van trombose door immobilisatie als gevolg van een operatie en/of botfractuur wordt geschat tussen de ~0.2 en ~17%.

Echter, in de huidige studie is profylactische medicatie om trombose te voorkomen niet nodig aangezien slechts 1 gewricht wordt geïmmobiliseerd voor een periode van slechts 3 dagen. Echter om het risico op trombose nog verder te verminderen zullen alle proefpersonen met een geschiedenis van trombose worden geëxcludeerd en zal men dagelijks oefeningen moeten uitvoeren om zo de *kuitsspierpomp* te activeren. De tijd die nodig is om deze oefeningen uit te voeren is 5 minuten. De oefeningen zullen 3 keer per dag (ochtend, middag en avond) worden uitgevoerd gedurende de 3 dagen immobilisatie. Ten slotte zullen de proefpersonen tijdens de immobilisatie goed gemonitord worden door het onderzoeksteam, welke regelmatig contact zullen opnemen met de proefpersonen om tekenen van tromboseontwikkeling te identificeren en indien nodig hierna te handelen. Dus, tijdens deze studie het risico op trombose minimaal ($<0,1\%$). Het ingegipste been zal voor veel fysieke hinder zorgen. Aangezien de proefpersonen het geïmmobiliseerde been niet mogen belasten word men voorzien van elleboogkrukken. Volledige instructie over het correct gebruik hiervan worden verleend. Om het risico op blessures door dit verlies in mobiliteit te beperken, zal men activiteiten als autorijden, fietsen en sporten niet mogen uitvoeren gedurende de 3 dagen dat het been geïmmobiliseerd is. Voor andere activiteiten (reizen, traplopen) kan men assistentie nodig hebben. Lopen is alleen toegestaan met de elleboogkrukken, zonder het geïmmobiliseerde been te belasten. Tijdens de eerste dagen/week nadat het gips is verwijderd kan men de effecten van een vermindering in spiermassa en *kracht ondervinden in het voorheen geïmmobiliseerde been. De normale mobiliteit en alledaagse activiteiten zullen niet langer beperkt zijn, echter kan de sportprestatie iets minder zijn in de eerste week na de studie. Echter, sinds alleen gezonde proefpersonen zullen deelnemen aan deze studie, zal de spierfunctie zich hoogstwaarschijnlijk volledig zelfstandig herstellen binnen een aantal weken nadat het gips is verwijderd. Het is inderdaad aangetoond dat zelfs na 3 weken immobilisatie van een been in jonge individuen het terug oppakken van spontane activiteiten voor 2 weken resulteert in een 90% herstel van de spierkracht en 95% herstel van spiervezelgrote. 6 weken nadat het gips is verwijderd zullen de proefpersonen voor een laatste keer gecontacteerd worden (via telefoon of e-mail) om na te gaan of men volledig is hersteld. Indien dit niet het geval is, zal er een trainingsschema worden opgesteld of zal men worden doorgestuurd naar de huisarts indien nodig.

Zoals hierboven beschreven is het leucine supplement algemeen geaccepteerd voor wetenschappelijke en klinische doeleinden. Geen grote risico's zijn geassocieerd met het gebruik van leucine in gezonde proefpersonen, zelfs voor langere perioden of wanneer gebruikt in concentraties hoger dan welke gebruikt worden in deze studie.

Contactpersonen

Publiek

Maastricht University

Universiteitssingel 50 H2.318
Maastricht 6200 MD
NL

Wetenschappelijk

Maastricht University

Universiteitssingel 50 H2.318
Maastricht 6200 MD
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

- * Matig actief
- * Man of vrouw 18-35 of 60-80 jaar oud (inclusief)
- * BMI niet lager dan 18.5 en niet hoger dan 30 kg/m²
- * Heeft het schriftelijke toestemmingsformulier getekend

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

- * Voorheen deelgenomen aan studies met ¹³C aminozuur tracers (binnen de afgelopen 5

jaar)

- * Klachten aan de benen en/of rug
- * Een geschiedenis van trombose/cardiovasculaire ziekten
- * Gebruik van anticoagulantia
- * Skeletspier en orthopedische aandoeningen
- * Volgen van een structureel krachttrainingsprogramma
- * Gebruik van corticosteroiden
- * Gebruik van eiwitsupplementen tijdens de studie
- * Diabetes (type I of II)
- * Zwangerschap
- * Hormoon vervangingsterapie
- * Derde generatie anticonceptiva
- * Gebruik van tabaksproducten

Onderzoekopzet

Opzet

Type:	Interventie onderzoek
Onderzoeksmodel:	Parallel
Toewijzing:	Gerandomiseerd
Blindering:	Dubbelblind
Controle:	Placebo
Doel:	Behandeling / therapie

Deelnemers

Nederland	
Status:	Werving gestopt
(Verwachte) startdatum:	24-04-2016
Aantal proefpersonen:	64
Type:	Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO	
Datum:	30-12-2015
Soort:	Eerste indiening

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

ID: 23203

Bron: NTR

Titel:

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL55456.068.15
Ander register	Will be registered at the Dutch trial register as soon as the METC registrationnumber for this protocol is provided
OMON	NL-OMON23203