



UHASSELT

KNOWLEDGE IN ACTION

Faculteit Geneeskunde en Levenswetenschappen

master in de revalidatiewetenschappen en de
kinesithérapie

Masterthesis

Muscle carnosine concentrations in m. vastus lateralis in patients with COPD

Willem Grauwels
Eline Verwimp

Scriptie ingediend tot het behalen van de graad van master in de revalidatiewetenschappen en de kinesithérapie,
afstudeerrichting revalidatiewetenschappen en kinesithérapie bij inwendige aandoeningen

PROMOTOR :

Prof. dr. Martijn SPRUIT

COPROMOTOR :

Mevrouw Jana DE BRANDT



UHASSELT

KNOWLEDGE IN ACTION

www.uhasselt.be

Universiteit Hasselt
Campus Hasselt:
Martelarenlaan 42 | 3500 Hasselt
Campus Diepenbeek:
Agoralaan Gebouw D | 3590 Diepenbeek

2017
2018



Faculteit Geneeskunde en Levenswetenschappen

master in de revalidatiewetenschappen en de
kinesitherapie

Masterthesis

Muscle carnosine concentrations in m. vastus lateralis in patients with COPD

Willem Grauwels

Eline Verwimp

Scriptie ingediend tot het behalen van de graad van master in de revalidatiewetenschappen en de kinesitherapie,
afstudeerrichting revalidatiewetenschappen en kinesitherapie bij inwendige aandoeningen

PROMOTOR :

Prof. dr. Martijn SPRUIT

COPROMOTOR :

Mevrouw Jana DE BRANDT

Muscle carnosine concentrations in m. vastus lateralis in patients with COPD.

Highlights:

- Carnosine levels and muscle function between COPD patients and healthy controls were not significantly different.
- Muscle carnosine concentrations and muscle function, except for isometric predicted m. quadriceps strength by Borges norm values, were not correlated.
- Further research in a larger group of patients with more severe muscle dysfunction is recommended.

Carried out by: Verwimp Eline, Grauwels Willem

Promotor: Prof. Dr. Martijn A. Spruit

Copromotor: Drs. Jana De Brandt

Acknowledgement

This master thesis will contribute to achieving our Master of Rehabilitation Sciences and Physiotherapy at the University of Hasselt (Belgium). We would like to thank the people who have contributed to the establishment of this master thesis.

First of all, we would sincerely like to thank our promotor, Prof. Dr. Martijn A. Spruit, and copromotor Drs. Jana De Brandt. With their scientific knowledge, encouragement, and advice we managed to establish this thesis. Secondly, our gratitude goes to all the subjects who participated. Without them, scientific research wouldn't be possible. We would also like to say thanks to the University of Hasselt, Prof. Dr. Frank Vandenabeele, Dr. Kenneth Verboven, Anne Bogaers, Prof. Dr. Wim Derave and his research team, and all the nurses of Jessa Hospital for their contribution to this thesis.

Furthermore, we would like to thank our parents for giving us the opportunity to study within this Master education of Rehabilitation Sciences and Physiotherapy and for believing in us. Also, we would like to thank our partners - Sander and Femke - for their personal support and motivation. Finally, to all our fellow students, a sincere thank you for all the moments of laughter, sadness, and joy.

Molenstraat 196, 2490 Balen, 27/06/2018

E.V.

Willekenslaan 41, 3130 Betekom, 27/06/2018

W.G.

Research context

This master thesis is situated in the research domain of 'rehabilitation of internal diseases', more specifically, 'respiratory diseases'.

There are two main reasons why gaining insight into muscle carnosine in persons with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) could be very interesting. Namely, carnosine itself which has excellent antioxidant properties¹⁸. And secondly, because persons with COPD have a lot of oxidative stress, which is one of the causes of muscle dysfunction in this population⁶. Next, it's interesting to investigate if muscle dysfunction is associated with muscle carnosine concentrations. Because this could lead to optimization of pulmonary rehabilitation and treatment of patients with COPD by supplementing them with beta-alanine, which is effective in increasing carnosine¹⁻³.

Thus, it will be very relevant for people with COPD, which is a chronic respiratory condition with a high prevalence and mortality⁴, and their healthcare providers.

This thesis is written by two students studying at Hasselt University, in their second master year of Rehabilitation Sciences and Physiotherapy. The students divided the work so that in the end one student had done about as much as the other. This master thesis is guided by promotor Prof. Dr. Martijn A. Spruit, Scientific Advisor at CIRO, Professor at Maastricht University and Associate Professor at Hasselt University and copromotor Drs. Jana De Brandt, Ph.D. Student at Hasselt University, Department Rehabilitation Sciences, and Physiotherapy.

This master thesis is based on an ongoing research project, which is the doctoral study of Drs. Jana De Brandt (oral beta-alanine supplementation (with and without exercise training) in patients with COPD: structural, metabolic and functional adaptations - FWODBRAJ - FWO bursary).

This study, and thus this master thesis takes place at REVAL (Rehabilitation Research Centre) at Campus Diepenbeek of Hasselt University and at ReGo (Rehabilitation and Health Center), which is located at Jessa Hospital in Hasselt.

A central format was used.

This master thesis took two years in total. During the first year, the research question was determined and the literature search was carried out. Next, the protocol for the study, which was conducted during this year, was written. Also, during this year the patients were recruited and the data were collected by Drs. Jana De Brandt. The students helped with the testing of the patients and analyzed the results.

Table of contents

1. Abstract	9
2. Introduction	11
3. Methods	13
3.1 Research design	13
3.2 Participants	13
3.2.1 Inclusion criteria	14
3.2.2 Exclusion criteria	14
3.2.3 Patient recruitment	14
3.3 Medical ethics	14
3.4. Protocol	15
3.4.1 Characteristics	15
3.4.2 Isometric strength measurement of the m. quadriceps via handheld dynamometry (Microfet - USA - Hoggan Health Industries Inc.)	16
3.4.3 Isometric peak strength and isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps (Biodex - New York - Biodex Medical Systems)	16
3.4.3.1 Isometric peak strength	16
3.4.3.2 Isokinetic strength-endurance	16
3.4.4 Exercise capacity	17
3.4.4.1 Maximal incremental cycle test	17
3.4.4.2 Constant work-rate cycle test	17
3.4.4.3 Six-minute walk test (6MWD)	17
3.4.5. Muscle biopsy of m. vastus lateralis	18
3.4.5.1 Determination of the muscle carnosine concentrations	18
3.5. Data-analysis	19
4. Results	21
4.1 Baseline characteristics	21
4.1.1 General characteristics	21

4.1.2 Characteristics of the DXA scan	21
4.1.3 Smoking status	21
4.1.4 GOLD stages	22
4.1.5 Lung function values	22
4.1.6 Questionnaires	22
4.2 Between-group differences in muscle carnosine concentrations (mmol/kg)	22
4.3 Between-group differences for the muscle function	23
4.3.1 Quadriceps strength (Biodex)	23
4.3.1.1 Isometric peak strength of the m. quadriceps (Nm)	23
4.3.1.2 Isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps (Joule)	23
4.3.2 Isometric strength measurement of the m. quadriceps via handheld dynamometry (Microfet - Newton)	23
4.4 Correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function	24
4.5 Subgroup analysis	24
4.5.1 GOLD I - II vs. GOLD III - IV	24
4.5.2 GOLD A&C vs. GOLD B&D (Symptoms)	25
4.5.3 >70% vs. <70% predicted quadriceps muscle strength	25
5. Discussion	27
5.1 Limitations of the study	29
7. References	33
8. Appendices	39

1. Abstract

Background: Skeletal muscle dysfunction is common in COPD patients. They suffer from earlier and increased lactic acid production, elevated exercise-induced oxidative stress levels and a decreased twitch force. Carnosine acts as an antioxidant and might be able to counteract the above-mentioned problems. Whether muscle carnosine concentrations are different in COPD patients compared to healthy persons and whether there is a correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function in the COPD group remains to be elucidated.

Objectives: The aim of this study is to investigate if there is a muscle carnosine deficiency, and to examine if lower muscle carnosine concentrations are associated with a lower muscle function in COPD patients.

Participants: 15 COPD patients and 14 healthy controls were included. The patients were informed of the study by their chest physician. The healthy controls were informed at the senior university of UHasselt and by the distribution of flyers.

Measurements: A biopsy of the m. vastus lateralis was obtained, and isometric quadriceps strength and isokinetic quadriceps strength-endurance were assessed.

Results: Muscle carnosine concentrations were not significantly lower in COPD patients compared to healthy controls (4.23 ± 1.43 vs. 4.74 ± 1.84 mmol/kg wet weight; $p=0.42$). No significant correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function could be demonstrated, except for isometric predicted m. quadriceps strength by Borges norm values ($p=0.02$, $r=0.59$).

Conclusion: This study found no difference in carnosine levels and muscle function between COPD patients and healthy controls. Muscle carnosine concentrations do not seem to be correlated to muscle function in this population, except for isometric predicted m. quadriceps strength by Borges norm values. This indicates that a difference between mild and (very) severe COPD patients is plausible. Because of this, further research in a larger group with more severe muscle dysfunction is recommended.

2. Introduction

“COPD is a life-threatening lung disease. This is a common, preventable, and treatable disease that is characterized by persistent respiratory symptoms and airflow limitation that is due to airway and/or alveolar abnormalities usually caused by significant exposure to noxious particles or gasses. The chronic airflow limitation that is characteristic of COPD is caused by a mixture of small airways disease (e.g. obstructive bronchiolitis) and parenchymal destruction (emphysema), the relative contribution of which vary from person to person. Common symptoms include dyspnea, cough and/or sputum production”⁴, a reduced lung function, poorer health-related quality of life that affect their exercise capacity⁹⁻¹⁰.

Muscle dysfunction, with a prevalence of 15-40% depending on definition and disease stage^{11,12}, can occur because of different reasons. Firstly, changes in lifestyle such as reduced habitual physical activity and smoking¹³. Secondly, disease-specific factors like hypoxia, systemic inflammation, oxidative stress, and drug therapy such as β agonists or corticosteroids could be another reason¹³. A third reason that must be taken into account is that COPD patients tend to be elderly and the loss of skeletal muscle mass as part of the natural aging process may be further exacerbated by COPD as a result of malnutrition, sarcopenia, and cachexia¹⁴. Sarcopenia is the loss of skeletal muscle mass because of reduced protein anabolism and atrophy of existing muscle fibers¹⁴⁻¹⁵. "Cachexia is a general ill health, malnutrition, and weight loss, usually associated with chronic diseases" (PubMed definition). Another important factor, which can affect skeletal muscle contractibility and function, is exercise-induced oxidative stress. This can be defined as a disturbance in oxidant/antioxidant systems. It has been documented in the pulmonary, blood, and muscle compartments of patients with COPD, and has been demonstrated to be increased after a strenuous incremental or even a light constant cycle exercise¹⁶⁻¹⁷.

Carnosine, a histidine-containing dipeptide synthesized in muscle and other tissues and composed of the two amino acids, histidine and beta-alanine¹⁸ has many beneficial functions that could be interesting for patients with COPD. First, it has been found to act as a pH-buffer by neutralizing the lactic acid produced in the skeletal muscles⁵. This is important because these patients have a reduced proportion of type I fibers and thus rely more on type II fibers. This also means a greater reliance on glycolysis resulting in an increased lactic acid production. This

accumulation of lactic acid in the muscle has been suggested to be a major cause of muscle fatigue in these patients⁶. Secondly, oxidative stress is emerging as a major contributor to muscle dysfunction in patients with COPD as described above. Under resting and exercise conditions, patients with COPD exhibit higher levels of lipid peroxidation, oxidized glutathione, and protein oxidation and nitration in the blood and limb muscles. These are important biomarkers to measure oxidative stress⁶. In the study of Oh-Ishi et al.¹⁹ the same results were found, but also a reduced oxidized glutathione/glutathione ratio was noted after patients performed a cycle ergometry at a similar intensity to normal activities of daily living (approximately three metabolic equivalents) until exhaustion. So, even a light exercise, like their regular activities of daily life, increases oxidative stress in COPD patients. This stress may alter the structure and function of membrane lipids, proteins, and DNA, eventually leading to cell injury and death^{6,19}. Carnosine is found to have a powerful antioxidant function and protects and stabilizes cell membranes by preventing oxidative stress caused by free radicals as shown by experiments on rats. Hereby, it decreases damage by metabolizing cortisol and noradrenaline, which is released in the blood under stress. This decrease in level of stress hormones in the blood leads to a decrease in the severity of the oxidative stress. Further, carnosine has the ability to block oxidation of biomolecules. This is possible because carnosine and related peptides act as quenchers of reactive and cytotoxic carbonyl species through its ability to form adducts with them. Carnosine is a protector of biomolecules from oxidative/carbonyl stress. The ability of carnosine to react with carbonyls of proteins (termed “carnosinylation” of proteins) is important for inactivation/removal of damaged proteins^{7,28}.

Based on the literature about muscle dysfunction in COPD and the positive effects of carnosine to counteract the lactic acid accumulation and high levels of oxidative stress. It can be concluded that research concerning the differences in muscle carnosine concentrations and its correlation with muscle function in patients with COPD compared to age- and gender-matched healthy controls is innovative and relevant. Because nowadays, there is no study known investigating this topic.

However, it's known from other studies, investigating muscle carnosine concentrations in patients with diabetes, that a lower carnosine content was measured in type II diabetes in contrast with type I diabetes patients and healthy controls²⁰.

3. Methods

3.1 Research design

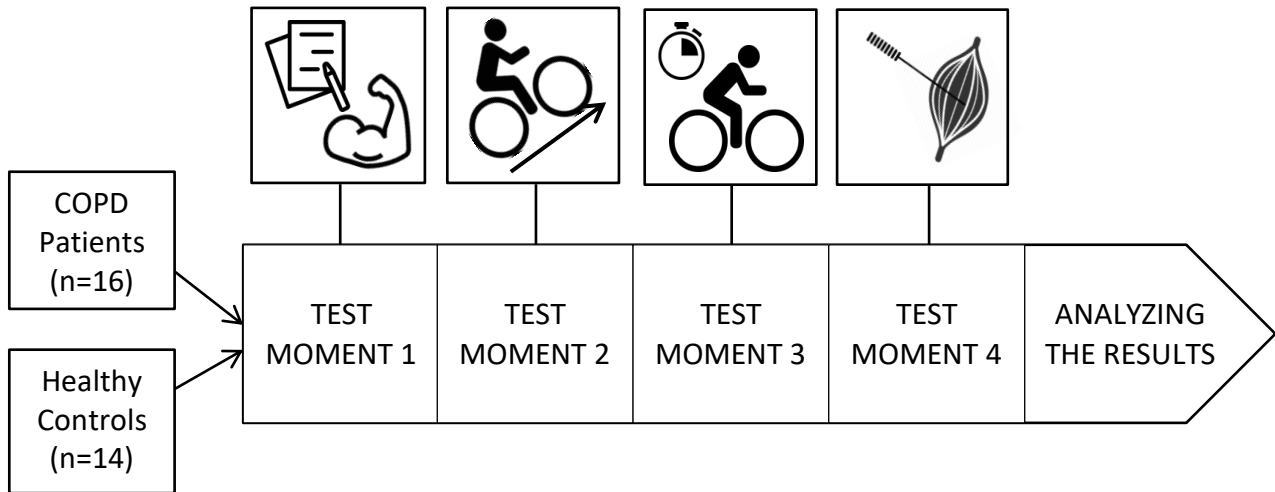


Fig. 1: Study Design

This prospective, cross-sectional study is set up to investigate the formulated research questions. This figure gives an overview of the study design.

The assessments (explained below in 3.4 protocol) of all parameters are performed during four test moments. Afterwards, the results of the assessments were analyzed.

3.2 Participants

Patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and age- and gender-matched healthy controls were included in this study. The patients needed to be diagnosed with COPD according to the criteria of American Thoracic Society guideline for lung function⁶ and the Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD) guideline⁴. These guidelines state that COPD can be considered in any patient who has dyspnea, chronic cough or sputum production and/or a history of exposure to risk factors for the disease. A lung function test (spirometry) is required to make the diagnosis. Hereby, a post-bronchodilator forced expiratory volume in one second (FEV_1)/forced vital capacity (FVC) <0.70 is necessary to confirm the presence of persistent airflow limitation plus the increase in FEV_1 after inhalation of a β_2 -agonist had to be less than ten percent of the reference value for stable COPD patients. The presence of these two aspects confirms the diagnosis of COPD in patients with appropriate symptoms and significant exposures to noxious stimuli⁴.

3.2.1 Inclusion criteria

COPD patients: People between 40 and 80 years, diagnosed with COPD.

Healthy controls: People between 40 and 80 years, not diagnosed with a lung or other disease.

3.2.2 Exclusion criteria

- COPD-specific exclusion criteria:
 - The patient has undergone pulmonary rehabilitation the last 12 months.
 - An exacerbation or hospitalization the previous six weeks.
- Vegetarians and/or drug and/or alcohol abuse.
- Contraindications for performing a maximal exercise test.
- Not Dutch-speaking.

3.2.3 Patient recruitment

The patients with COPD were informed of the study by their own chest physician (three chest physicians were asked to inform their patients about this study). The healthy controls were informed of the study by the senior university of UHasselt or by the distribution of flyers via colleagues and acquaintances. If they agreed to participate, Drs. Jana De Brandt contacted these participants to arrange the testing moments.

3.3 Medical ethics

Approval for this study (including the informed consent document - see document 1 in appendix) was obtained from the Medical Ethics Committee of the Jessa Hospital in Hasselt and from the Medical Ethics Committee of the UHasselt (see document 2 in appendix). If patients decided to participate in the study, they signed the informed consent of which they got a copy. This study is registered on a public website (Clinicaltrials.gov), with the number NCT02770417.

3.4. Protocol

3.4.1 Characteristics

Age, height, weight, BMI, sex, medication intake, hospitalization in the last twelve months, exacerbation in the last six weeks, and smoking status were obtained on day one. Also, all participants performed a lung function test, which consisted of three parts (spirometry, lung volume measurements, and diffusion capacity). For the spirometry test, the breathing tube was inserted into the subject's mouth, making sure the lips were sealed around the mouthpiece and that the tongue did not occlude it. Then the subject started with a few normal breaths. When the patient felt ready they inhaled rapidly and completely, and hereafter the FVC maneuver began with minimal hesitation. The subject should be prompted to "blast", not just "blow" the air from their lungs. He/she was encouraged to fully exhale²². The following two parts were performed by the COPD patients only. The lung volumes were measured using a body plethysmography. The patients were placed in a body box and were asked to breathe normally, whereafter the shutter maneuver was performed. This means a valve in the breathing tube closes, the patient was asked to keep breathing. After that, the patient was asked to breathe out as far as possible and to breath in as deep as possible. This, so the residual volume (RV) and total lung capacity (TLC) could be calculated. Finally, the patient was asked to perform a prolonged forced expiration, to determine the FEV₁ and FVC²³. For the last test, the patient started with unforced exhalation to RV. At RV, the subject's mouthpiece is connected to a source of test gas and the subject inhales rapidly to TLC and was then instructed to hold their breath for approximately 10 ± 2 seconds. Hereafter the patient could exhale. This expiratory maneuver must be smooth, unforced, and without hesitation or interruption²⁴.

Further, the patients filled in two questionnaires: COPD assessment test (CAT)³⁹ and modified medical research council dyspnea scale (mMRC)²⁵. Next, a dual-energy X-ray absorptiometry (DXA scan)²⁷ was performed to assess body composition. Hereby the following measurements were taken: fat percentage and fat-free mass of the total body, weight of each body region, weight and density of the bones per region and in total.

3.4.2 Isometric strength measurement of the m. quadriceps via handheld dynamometry (Microfet - USA - Hoggan Health Industries Inc.)

In this test, the participant was asked to sit on a table with both feet off the floor and their hands on their knees, not holding the table. The handheld dynamometer was placed two fingers width above the malleoli on the tibia. Then the participant was asked to extend the knee and isometrically build up its strength in three steps (25% → 50% → 100%), like this, the assessor (sitting against a wall) could provide sufficient counterforce. The participant was asked to push four times with the right leg and four times with the left leg.

3.4.3 Isometric peak strength and isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps (Biodex - New York - Biodex Medical Systems)

3.4.3.1 Isometric peak strength

Participants were seated in the device, with their hips and knees approximately 90° flexed and their hands placed on their knees. They were stabilized with shoulder, abdominal, knee, and ankle straps. The anatomical axis of rotation was aligned to the dynamometer axis using visual inspection. Prior to each test, participants got an explanation of what was expected of them and became familiar with the procedures by performing three-five submaximal contractions as warm-up. During the test they were guided by instructions from the assessors to encourage maximal muscle performance. The isometric test included three maximal voluntary contractions (MVC) of the m. quadriceps at 45° and at 90°. Each lasting four seconds, separated by 20 second rest intervals²⁶. The highest achieved peak value was taken. This test gives an indication of the maximal strength of the m. quadriceps.

3.4.3.2 Isokinetic strength-endurance

Participants used the same starting position as in the isometric peak strength test. For this test, total work extension was used as a measure for strength-endurance. The isokinetic test included 20 maximal concentric reciprocal contractions²⁶ at a relatively fast pace (180°/s). The starting point was to always do this with maximum effort. This gave an indication of the maximal strength-endurance of the m. quadriceps.

3.4.4 Exercise capacity

3.4.4.1 Maximal incremental cycle test

For the maximal incremental cycle test (ICT)³⁰ on day two, the subjects were exercised on a stationary bicycle. Hereby a 12-lead ECG of the heart was taken in combination with breath-by-breath analysis (Jaeger Oxycon Pro - USA - CareFusion). The protocol consisted of a 3-minute seated rest followed by a 3-minute warm up at 15W whereafter the test began. Hereby the wattage increased respectively with 5W (<360 m on the 6MWT and <1L for FEV₁) or 10W for the patients, and 15W (women) or 20W (men) for the healthy controls, with a constant speed around 50-70 rpm. Subjects were exercised to symptom limitation. They were instructed that they could stop the test, whenever they felt the need to do so²⁸. And if they stopped, the 5-minute recovery started. The measurements taken during the test, immediately after, and after two minutes of recovery were the following: blood pressure, oxygen saturation (SaO₂), and lactate. These were measured every two minutes and after two minutes of recovery. The modified Borg dyspnea and fatigue of the legs score was asked at the start and immediately after the end of the test.

3.4.4.2 Constant work-rate cycle test

On day three a constant work-rate cycle test (CWRT)⁴⁰ was performed at 75% of the highest wattage, endured for a minimum of 45 seconds at the end of the ICT. The participant performed the same warming-up as described above. Also, for this test a 12-lead ECG of the heart was taken in combination with breath-by-breath analysis. For the test the participant was asked to cycle as long as possible on a speed around 50-70 rpm, with a maximum of 20 minutes. Heart rate and SaO₂ were measured every two minutes and the blood pressure was measured every four minutes. Lactate was measured at three and six minutes. These measures were also taken at the beginning and after two minutes of recovery. The modified Borg dyspnea and fatigue of the legs score was taken at the beginning and right after terminating the test.

3.4.4.3 Six-minute walk test (6MWD)

For this test SaO₂, heart rate, blood pressure, and the modified Borg dyspnea and fatigue of the legs score were asked/measured at rest, immediately after termination of the test and after four minutes of rest. The participants were instructed to walk as fast as they could and as many

rounds as possible over a distance of 60m at a time of six minutes. They were encouraged every minute so that one had an idea of the time course. The 6MWT was performed two times⁴¹.

3.4.5. Muscle biopsy of m. vastus lateralis

The last testing day, the participant was locally anesthetized with xylocaine 1%. After 15 minutes the physician checked if the amount of anesthetics was sufficient and gave extra if necessary. When the anesthetic worked properly, the physician made a small incision (five mm) and muscle was obtained via the Bergström technique²⁹. The muscle samples were snap frozen. Hereby the muscle tissue was squeezed between a forceps, cooled in liquid nitrogen, whereafter it was put in a tube and placed in liquid nitrogen. These samples were stored in the freezer at the Rehabilitation Research Centre (REVAL) of U Hasselt in Diepenbeek (-80°C). So that they could be used to determine the muscle carnosine concentrations later on. The biopsies were analyzed by Drs. Jana De Brandt in cooperation with Prof. Dr. Wim Derave and his research team at Ghent University. The results were given to the students.

3.4.5.1 Determination of the muscle carnosine concentrations

Carnosine was quantified by means of reversed-phase HPLC (high-performance liquid chromatography). Muscle biopsies of the vastus lateralis were dissolved in phosphate buffered saline solution + EDTA (30 µL per 1 mg wet weight muscle tissue) for homogenization. Muscle homogenates were deproteinized using 35% sulfosalicylic acid and centrifuged (5 min, 16.000g). Deproteinized supernatant (5 µL) was mixed with 75 µL AccQ Fluor Borate buffer and 20 µL reconstituted Fluor



Reagent from the AccQTag chemistry kit (Waters). The same method was applied to the combined standard solutions of carnosine (Flamma). The derivatized samples were applied to a Waters HPLC system comprised of an Xbridge BEH C18 column (2.5 µm, 4.6 x 150 mm) and fluorescence detector (excitation/emission wavelength: 250/395 nm). The column was equilibrated with buffer A [10% eluent A (Waters) - 90% H₂O], buffer B (100% acetonitrile) and buffer C (100% H₂O) at a flow rate of 1 ml/min at room temperature.

3.5. Data-analysis

Statistical analyses were performed by using SAS JMP Pro 13. Normality was evaluated using the Shapiro-Wilk test and graphically using a normal quantile plot, for the COPD patients and the healthy controls separately. Additionally, before data analysis, homogeneity of variances (Levene's test) was checked. If the conditions were met the Unpaired student's T-test was applied for the comparison of the outcome measures between both groups. To see if there's a correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function in the COPD group, Pearson correlation coefficient was used. To use this correlation coefficient, a couple of assumptions must be met: level of measurement (each variable should be continuous), related pairs (each participant should have a pair of values), absence of outliers, normality of variables, and a linear relationship between the two variables.

When normality was not demonstrated, the non-parametric Mann-Whitney U test was applied for the comparison of the two groups and the Spearman's rank correlation coefficient was used to examine a correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function in the COPD group. When homogeneity of the variances was not demonstrated, Welch's test was used for the comparison of the two groups, and the Spearman's rank correlation coefficient was used to examine a correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function in the COPD group. All data are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD) (in case normality was met) or median [Q1 - Q3] (in case normality wasn't met). The statistical significance was adjusted to $p < 0.05$.

4. Results

4.1 Baseline characteristics

Figure 2 presents the flowchart of the study, with the representative number in each group. The main characteristics of the subjects are shown in table 1. Both groups were reasonably homogeneous. A significant difference ($p < 0.01$) between both groups is indicated by the following symbol: \$.

One patient was excluded for data-analysis because it was an extreme outlier in terms of carnosine value. The obtained value was physiologically not impossible, but not to be expected. The research team of Prof. Dr. Wim Derave advised retesting the carnosine value of the patient. Unfortunately, these results will not be available in time to be used in this thesis.

4.1.1 General characteristics

Thus, 15 COPD patients and 14 age- and gender-matched healthy controls were included in the study. The patients had a mean age of 66 ± 5 years vs. 65 ± 5 years in healthy controls (HC). The sample size existed of 10 (67%) males vs. 9 males (64%) in COPD patients and HC, respectively. Mean height and weight were 168 ± 6 cm vs. 171 ± 8 cm and 72.7 ± 15.3 kg vs. 76.9 ± 17 kg in COPD patients and HC, respectively. This resulted in a mean BMI of 25.8 ± 5.5 kg/cm² in COPD patients vs. 26 ± 3.9 kg/cm² in HC.

4.1.2 Characteristics of the DXA scan

Mean body fat and lean mass/height² were 28.6 ± 9.2 % vs. 28.1 ± 6.6 % and 18.0 ± 2.4 % vs. 18.4 ± 2.7 % in COPD patients and HC, respectively. The total mass and fat mass of the right leg in patients were 10087 ± 1579 kg vs. 11100 ± 2090 kg in HC and 2720 ± 1176 kg in COPD patients vs. 2923 ± 810 kg in HC.

4.1.3 Smoking status^{\$}

6 out of 15 (40%) COPD patients and none of the healthy controls were current smokers. The other nine (60%) COPD patients vs. six (43%) HC were ex-smokers, and zero COPD patients vs. eight (57%) HC had never smoked.

4.1.4 GOLD stages

If we divided the COPD patients into the GOLD stages, which is the classification of airflow limitation severity in COPD⁴. One patient was allocated to GOLD 1 ($FEV_1 \geq 80\%$ predicted), ten were to GOLD 2 ($50\% \leq FEV_1 < 80\%$ predicted), three patients to GOLD 3 ($30\% \leq FEV_1 < 50\%$ predicted), and one patient to GOLD 4 ($FEV_1 < 30\%$ predicted)²².

4.1.5 Lung function values

Next, the mean of the different lung function values in the COPD patients were: $FVC^{\S} 91.9 [77.2 - 98.7] \%pred$, $FEV_1^{\S} 57.6 \pm 13.7 \%pred$, $FEV_1/FVC^{\S} 52.0 \pm 11.7 \%$, $DLco 54.6 \pm 11.1 \%pred$, $VC 82.0 \pm 13.1 \%pred$, $TLC 116.3 \pm 18.3 \%pred$, and $RV 179.2 \pm 45.9 \%pred$. Also, three COPD patients were hospitalized and had an exacerbation (20%). The other 12 COPD patients (80%) had neither of both. For the healthy controls the $FVC^{\S}$ was $112.3 [107.8 - 121] \%pred$, $FEV_1^{\S} 107.8 \pm 15.6 \%pred$, and $FEV_1/FVC^{\S} 74.7 \pm 6.2 \%$.

4.1.6 Questionnaires

At last, for the COPD assessment test^{\\$}, a score of 16 [5 - 19] vs. 4 [2.8 - 6.2] was noted for the COPD patients and the HC, respectively. For the mMRC questionnaire^{\\$}, a median score [Q1 – Q3] of 1 [0-1] was found for the COPD patients vs. 0 [0-0] for the HC.

4.2 Between-group differences in muscle carnosine concentrations (mmol/kg)

In this sample of 15 COPD patients vs. 14 healthy controls, the muscle carnosine concentrations were examined and presented in figure 3. Hereby it was seen that muscle carnosine concentrations were not significantly lower in this sample of patients with COPD in comparison to age- and gender-matched healthy controls ($p=0.42$).

Group	COPD patients (n= 15)	Healthy controls (n= 14)
Muscle carnosine concentrations (mmol/kg)	4.23 ± 1.43	4.74 ± 1.84

* Significant difference between-groups ($p<0.05$).

\\$ Significant difference between-groups ($p<0.01$).

4.3 Between-group differences for the muscle function

4.3.1 Quadriceps strength (Biodex)

4.3.1.1 Isometric peak strength of the m. quadriceps (Nm)

The values of the quadriceps muscle strength are shown in figure 4-5. The values for the m. quadriceps strength were 103.2 ± 29.5 Nm vs. 116.5 ± 37.4 Nm at 45° ; and 137.8 ± 46.0 Nm vs. 151.9 ± 49.3 Nm at 90° , respectively for the patients and healthy controls. No significant differences in quadriceps (at 45° : $p=0.30$; at 90° : $p=0.43$) peak strength was found between the groups.

The percentages of the predicted m. quadriceps strength at 90° , using the normative values developed by Borges³⁸ were 75.9 ± 17.1 %pred and 85.3 ± 16.1 %pred respectively for the patients and the healthy controls, as shown in figure 6. No significant differences were found between the two groups ($p=0.14$).

4.3.1.2 Isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps (Joule)

The values of the m. quadriceps strength-endurance are shown in figure 7. The values for the m. quadriceps endurance were 1100 ± 319 J vs. 1329 ± 385 J, respectively for the patients ($n=9$) and healthy controls ($n=12$). No significant differences in m. quadriceps endurance ($p=0.15$) were found between both groups. The lower number of subjects in each group is due to the fact that these isokinetic tests were not always executed correctly by the patient. Hereby it is meant that the highest achieved peak was not reached before their fifth peak.

4.3.2 Isometric strength measurement of the m. quadriceps via handheld dynamometry (Microfet - Newton)

The values of the isometric m. quadriceps strength are shown in figures 8 and 9. At the right side, the values for the m. quadriceps strength were 217.1 [$187.3 - 301.6$] N vs. 271.8 [$260.5 - 378.9$] N; and at the left side 230.0 [$187.3 - 304.0$] N vs. 285.0 [$225.0 - 396.5$] N respectively for the patients ($n=7$) and healthy controls ($n=14$ for the right side and $n=13$ for the left side). A significant difference between both groups was found for the quadriceps strength in the right leg ($p=0.04$), but not in the left leg ($p=0.20$). The lower number of subjects in the COPD group is due to the lack of strategic positioning.

4.4 Correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function

Within the COPD group, the correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function was investigated.

In table 3, Pearson correlation coefficients are presented for the relationship between values of muscle carnosine concentrations and muscle function parameters. In figures, 10-15 scatterplots of the correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function parameters are shown.

Within this group, the correlation analysis revealed no significant relationships between muscle carnosine concentrations and the following muscle function parameters. Namely, isometric strength of the m. quadriceps (at 45°: $p=0.07$, $r=0.49$ and at 90°: $p=0.08$, $r=0.47$), isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps ($p=0.17$, $r=0.50$, $n=9$), and m. quadriceps strength (right side: $p=0.95$, $r=0.03$, $n=7$ and left side: $p=0.57$, $r=0.26$, $n=7$) via the handheld dynamometer. For the isometric predicted m. quadriceps strength by Borges norm values a positive significant relation was found ($p=0.02$, $r=0.59$).

4.5 Subgroup analysis

This subgroup analysis is done to make a distinction between mild and (very) severe COPD patients. This in terms of GOLD I - IV classification, which represents the classification of airflow limitation severity in COPD⁴ expressed in %FEV₁; the GOLD A&C versus the GOLD B&D, which represents the symptoms, and the % of the predicted (>70% vs. <70%) m. quadriceps strength (having a m. quadriceps strength of less than 70% is a condition of the RIZIV to qualify for respiratory rehabilitation in a specialized center²¹).

4.5.1 GOLD I - II vs. GOLD III - IV

Group	GOLD I - II (n=11)	GOLD III - IV (n=4)
Muscle carnosine concentrations (mmol/kg)	4.43 ± 1.56	3.70 ± 0.92

There is no significant difference in muscle carnosine concentrations between both groups ($p=0.29$).

4.5.2 GOLD A&C vs. GOLD B&D (Symptoms)

Group	GOLD A&C (n=5)	GOLD B&D (n=10)
Muscle carnosine concentrations (mmol/kg)	4.48 ± 1.57	4.11 ± 1.42

There is no significant difference in muscle carnosine concentrations between both groups (p=0.67).

4.5.3 >70% vs. <70% predicted quadriceps muscle strength

Group	>70% predicted m. quadriceps strength (n=9)	<70% predicted m. quadriceps strength (n=6)
Muscle carnosine concentrations (mmol/kg)	4.51 ± 1.65	3.82 ± 1.00

There is no significant difference in muscle carnosine concentrations between both groups (p=0.33).

5. Discussion

The aim of this cross-sectional study was to investigate if there is a carnosine deficiency in patients with COPD, compared to age- and gender-matched healthy controls and to see if there is an association between muscle carnosine concentrations and muscle function in patients with COPD. Carnosine is currently unknown territory in patients with COPD but should gain more interest, given the benefits of this histidine containing-dipeptide. Currently, no studies were performed on this topic in the COPD population. But, it has been examined in other populations, namely, type II diabetes. Considering the similarities of chronic conditions in general, it might be an indicator for the COPD population. In this study of Gualano et al.²⁰, a lower carnosine content was found in patients with type II diabetes. This finding is not in accordance with our study, as our analyses revealed no significant carnosine deficiency in patients with COPD compared to age- and gender-matched HC.

There might be a couple of possible reasons for not finding any significant difference between the COPD group and the HC. First, patients had a median score [Q1 – Q3] of 16 [5 - 19] on the COPD assessment test (CAT), which represents a medium impact of COPD. This reflects that the COPD patients still had a good functional status, which might implicate that muscle dysfunction is not yet so prevalent in this group of patients. Another reason which could have caused the lack of significant differences between both groups, can be found in the study of Stegen et al. This paper showed that muscle histidine-containing dipeptides were elevated in male individuals with obesity (+21%, $p>0.1$), progressive glucose intolerance (prediabetes) (+30%, $p<0.05$), and diabetics (+39%, $p<0.05$) compared to healthy lean subjects. This observation could be related to the fact that the enzyme carnosine synthase was more expressed in skeletal muscle compared to other tissues (retina, kidney, liver), whereby restoration of initially decreased muscle carnosine levels were more easily achieved. Yet, all these patients are in the early stage of the disease. Whereby it is possible that they upregulate their muscle carnosine levels, like a sort of compensation mechanism, to decrease their initially elevated oxidative stress³⁷. On the other hand, in the study of Gualano et al. with patients diagnosed with diabetes since $\pm$ seven years, a significant decrease in carnosine content (45%) was shown compared with healthy controls. So, it is possible that the compensation mechanism fails at maintaining the muscle carnosine concentration.

As shown in the results section, no significant differences were found between the COPD group and the HC regarding isometric quadriceps muscle strength and isokinetic quadriceps muscle strength-endurance, except for the m. quadriceps strength of the right leg measured with a hand-held dynamometer.

This is a quite unexpected result, regarding the fact that various studies have already proven muscle strength to be reduced in a COPD population¹². The participants included in this study mainly consisted of COPD stage GOLD II (10/15; 67%). They also have muscle dysfunction, but to a lesser extent than for example COPD stage GOLD IV patients⁴³. Which could be a reason for not finding a significant difference, but also the fact that our patients still had a good functionality could be another one. Also, the presence of an inclusion bias may have contributed to not finding a significant difference. This means that the chest physician, who forwards possible patients, will send more COPD patients who have a better functionality because he knows the test battery is physically very heavy. More severe COPD patients might drop out because they think they cannot handle such a tough test battery.

The fact that the quadriceps strength of the right leg measured with a hand-held dynamometer is significantly different, could be due to the fact that some of the patients (n= 8) could not be tested with this device. With the result that only seven of the fifteen patients were tested and analyzed. For the 90° isometric quadriceps strength measured with the Biodex, all patients and healthy controls were measured correctly. This and the fact that the Biodex is the golden standard for measuring isometric m. quadriceps strength is why we rely on the Biodex outcome.

No correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function was found in the COPD group, but the following parameters showed a tendency to significance: isometric strength of the m. quadriceps at 45° (p=0.07), at 90° (p=0.08), and isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps (p=0.05). As data is preliminary, it will be interesting to see how these parameters develop when the study is completed. For the isometric predicted m. quadriceps strength by Borges norm values a positive correlation was found. Hereby age and gender are taken into account. Which means if %predicted wasn't applied, as in the correlation between muscle carnosine concentration and isometric m. quadriceps strength at 90°, age and gender could act as confounding factors. These two parameters are important to bear in mind because older patients have a lower muscle strength. The older the COPD patient gets, the more loss of skeletal muscle mass there is as part of the natural aging process. This can be further

exacerbated as a result of malnutrition, sarcopenia, and cachexia. The strong correlation found for the isometric predicted m. quadriceps strength by Borges norm values shows us that weaker COPD patients have less muscle carnosine concentrations independently from age and gender. And this group of patients could be the one worth focusing on in the future.

Even though no carnosine deficiencies were found, this does not mean oral beta-alanine supplementation might not be useful in a population of COPD patients. It has already been proven that a lot of patients with COPD have muscle weakness to some extent, in some cases even limiting their quality of life⁶. A study showed that supplementation with oral beta-alanine (daily doses of beta-alanine 4.8-6.4g) increases isometric and isokinetic m. quadriceps strength during single or repeated bouts in athletes³². Another study, where older adults were supplemented with a very low (800 mg twice daily) and low (1200 mg twice daily) amount of beta-alanine, added to an oral nutritional supplement (ONS) for 12 weeks, also showed an increase of the physical working capacity at the fatigue threshold, as well as the muscle function and quality measures in older adults³¹.

This means you don't need a carnosine deficiency, to benefit from oral beta-alanine supplementation. To date, no information is available on beta-alanine supplementation in COPD. Although, if taken into account that 9-10% of the general population is diagnosed with COPD³⁵⁻³⁶ and that approximately 15-40%, depending on definition and disease stage, of these patients suffer from muscle dysfunction¹¹. It could be quite interesting for future studies to concentrate on the effects of oral supplementation with beta-alanine in this population. And to see if it contributes to an improved peripheral muscle function.

5.1 Limitations of the study

This study had some limitations, resulting in recommendations for future research.

In the study mainly patients with GOLD II classification are included. It might be interesting to include more different GOLD stages to see if there is a difference in carnosine concentrations and outcome parameters across the severity of the disease. It is, however, important to know that this protocol was quite strenuous for COPD patients and many eligible patients refused participation, because of the extensive test days.

Also, all patients were put together and no distinction was made in being recently diagnosed or for a long period of time. Someone who is already suffering from a disease for a long period of time will have another body composition and muscle function than someone who is recently diagnosed³³.

Furthermore, familiarization trials could be useful, especially when measuring the isokinetic m. quadriceps strength-endurance with the Biodex. Because many participants did not start with giving their maximal effort. In the study of Hartmann et al., it is described that older subjects require familiarization testing sessions (8-9 sessions). However multiple sessions may not be practical for older adults (with COPD). It may be speculated that the period of warm-up in the protocol should be modified to minimize systemic bias while including more submaximal contractions and one or two maximal contractions³⁴. Yet, this was hardly possible, because there was insufficient time. The patients already had to come for four days, but in an ideal world, this would be the best protocol.

The results of this thesis are preliminary and based on a small sample size, as it is part of a bigger study which will include more patients.

6. Conclusion

According to this study, there is no significant difference in carnosine levels and muscle function between persons with COPD and age- and gender-matched healthy controls. Muscle carnosine concentrations do not seem to be correlated to muscle function in this COPD population, except for isometric predicted m. quadriceps strength by Borges norm values where age and gender are taken into account. Therefore, further research on this topic, in a larger group with more severe muscle dysfunction, is recommended.

7. References

-
- | | | |
|---|--|----------------|
| 1 | Dunnett, M., & Harris, R. C. (1999). Influence of oral beta-alanine and L-histidine supplementation on the carnosine content of the gluteus medius. <i>Equine Vet J Suppl</i> (30), 499-504. | Source: Pubmed |
|---|--|----------------|
-
- | | | |
|---|---|----------------|
| 2 | Hill, C. A., Harris, R. C., Kim, H. J., Harris, B. D., Sale, C., Boobis, L. H., Wise, J. A. (2007). Influence of beta-alanine supplementation on skeletal muscle carnosine concentrations and high-intensity cycling capacity. <i>Amino Acids</i> , 32(2), 225-233. doi:10.1007/s00726-006-0364-4 | Source: Pubmed |
|---|---|----------------|
-
- | | | |
|---|---|----------------|
| 3 | Kendrick, I.P., Harris, R.C., Kim, C.K., Kim, H.J., Viet, D.H., Thanh, L.Q., Toai, B.T., Wise, J.A. (2006). The effect of beta-alanine (Carnosyn) supplementation on muscle carnosine synthesis during 4 weeks using a one-leg training model (Abstract). <i>J. Int. Soc. Sports Nutr.</i> 2006, 3, S8. | Source: Pubmed |
|---|---|----------------|
-
- | | | |
|---|--|----------------|
| 4 | From the Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2018. Available from: http://goldcopd.org . | Source: Google |
|---|--|----------------|
-
- | | | |
|---|--|----------------|
| 5 | Kohen, R., Yamamoto, Y., Cundy, K. C., & Ames, B. N. (1988). Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> , 85(9), 3175-3179. | Source: Pubmed |
|---|--|----------------|
-
- | | | |
|---|---|----------------|
| 6 | Maltais, F., Decramer, M., Casaburi, R., Barreiro, E., Burelle, Y., Debigare, R., Wagner, P. D. (2014). An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: update on limb muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. <i>Am J Respir Crit Care Med</i> , 189(9), e15-62. doi:10.1164/rccm.201402-0373ST | Source: Pubmed |
|---|---|----------------|
-
- | | | |
|---|---|----------------|
| 7 | Prokopieva, V. D., Yarygina, E. G., Bokhan, N. A., & Ivanova, S. A. (2016). Use of Carnosine for Oxidative Stress Reduction in Different Pathologies. <i>Oxid Med Cell Longev</i> , 2016, 2939087. doi:10.1155/2016/2939087 | Source: Pubmed |
|---|---|----------------|
-
- | | | |
|---|---|----------------|
| 8 | Couillard, A., Maltais, F., Saey, D., Debigare, R., Michaud, A., Koechlin, C., Prefaut, C. (2003). Exercise-induced quadriceps oxidative stress and peripheral muscle dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. <i>Am J Respir Crit Care Med</i> , 167(12), 1664-1669. doi:10.1164/rccm.200209-1028OC | Source: Pubmed |
|---|---|----------------|
-
- | | | |
|---|---|----------------|
| 9 | Ferreira, I. M., Brooks, D., White, J., & Goldstein, R. (2012). Nutritional supplementation for stable chronic obstructive pulmonary disease. <i>Cochrane</i> | Source: Pubmed |
|---|---|----------------|
-

- | | | |
|-------|--|----------------|
| 10 | Mallampalli, A. (2004). Nutritional management of the patient with chronic obstructive pulmonary disease. <i>Nutr Clin Pract</i> , 19(6), 550-556. doi:10.1177/0115426504019006550 | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 11 | Sanders, K. J., Kneppers, A. E., van de Bool, C., Langen, R. C., & Schols, A. M. (2016). Cachexia in chronic obstructive pulmonary disease: new insights and therapeutic perspective. <i>J Cachexia Sarcopenia Muscle</i> , 7(1), 5-22. doi:10.1002/jcsm.12062 | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 12 | Engelen, M. P., Schols, A. M., Baken, W. C., Wesseling, G. J., & Wouters, E. F. (1994). Nutritional depletion in relation to respiratory and peripheral skeletal muscle function in out-patients with COPD. <i>Eur Respir J</i> , 7(10), 1793-1797. | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 13 | van de Bool, C., Steiner, M. C., & Schols, A. M. (2012). Nutritional targets to enhance exercise performance in chronic obstructive pulmonary disease. <i>Curr Opin Clin Nutr Metab Care</i> , 15(6), 553-560. doi:10.1097/MCO.0b013e328358bdeb | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 14 | Thomas, D. R. (2007). Loss of skeletal muscle mass in aging: examining the relationship of starvation, sarcopenia and cachexia. <i>Clin Nutr</i> , 26(4), 389-399. doi:10.1016/j.clnu.2007.03.008 | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 15 | von Haehling, S., Morley, J. E., & Anker, S. D. (2010). An overview of sarcopenia: facts and numbers on prevalence and clinical impact. <i>J Cachexia Sarcopenia Muscle</i> , 1(2), 129-133. doi:10.1007/s13539-010-0014-2 | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 16 | Koechlin, C., Couillard, A., Simar, D., Cristol, J. P., Bellet, H., Hayot, M., & Prefaut, C. (2004). Does oxidative stress alter quadriceps endurance in chronic obstructive pulmonary disease? <i>Am J Respir Crit Care Med</i> , 169(9), 1022-1027. doi:10.1164/rccm.200310-1465OC | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 17 | Koechlin C., Maltais F., Saey D., Michaud A., LeBlanc P., Hayot M., Préfaut C. (2005). Hypoxaemia enhances peripheral muscle oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. <i>Thorax</i> 2005; 60: 834-841. doi: 10.1136/thx.2004.037531. | Source: Pubmed |
| <hr/> | | |
| 18 | Artioli, G. G., Gualano, B., Smith, A., Stout, J., & Lancha, A. H., Jr. (2010). Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance. <i>Med Sci Sports Exerc</i> , 42(6), 1162-1173. doi:10.1249/MSS.0b013e3181c74e38 | Source: Pubmed |
-

19	Oh-ishi S., Nemoto K., Saito T. (2015). Skeletal muscle dysfunction and oxidative stress in patients with chronic obstructive lung disease. <i>Journal of physical fitness sports medicine</i> , 4(3): 279-286 (2015).	Source: J-Stage
20	Gualano, B., Everaert, I., Stegen, S., Artioli, G. G., Taes, Y., Roschel, H., Derave, W. (2012). Reduced muscle carnosine content in type 2, but not in type 1 diabetic patients. <i>Amino Acids</i> , 43(1), 21-24. doi:10.1007/s00726-011-1165-y	Source: Limo
21	Inami. (2014, October 10). Overeenkomst ernstige chronische ademhalingsstoornissen. Retrieved from http://www.inami.fgov.be/NL/THEMAS/KOST-TERUGBETALING/ZIEKTEN/Paginas/default.aspx#.WxBrrEiWTIV	Source: Google
22	Miller, M. R., Hankinson, J., Brusasco, V., Burgos, F., Casaburi, R., Coates, A., Wanger, J. (2005). Standardisation of spirometry. <i>Eur Respir J</i> , 26(2), 319-338. doi:10.1183/09031936.05.00034805	Source: Pubmed
23	Criece, C. P., Sorichter, S., Smith, H. J., Kardos, P., Merget, R., Heise, D., Jorres, R. A. (2011). Body plethysmography--its principles and clinical use. <i>Respir Med</i> , 105(7), 959-971. doi:10.1016/j.rmed.2011.02.006	Source: Pubmed
24	Graham, B. L., Brusasco, V., Burgos, F., Cooper, B. G., Jensen, R., Kendrick, A., . . . Wanger, J. (2017). 2017 ERS/ATS standards for single-breath carbon monoxide uptake in the lung. <i>Eur Respir J</i> , 49(1). doi:10.1183/13993003.00016-2016	Source: Pubmed
25	Mahler, D. A., Ward, J., Waterman, L. A., McCusker, C., ZuWallack, R., & Baird, J. C. (2009). Patient-reported dyspnea in COPD reliability and association with stage of disease. <i>Chest</i> , 136(6), 1473-1479. doi:10.1378/chest.09-0934	Source: Pubmed
26	Harbo, T., Brincks, J., & Andersen, H. (2012). Maximal isokinetic and isometric muscle strength of major muscle groups related to age, body mass, height, and sex in 178 healthy subjects. <i>Eur J Appl Physiol</i> , 112(1), 267-275. doi:10.1007/s00421-011-1975-3	Source: Pubmed
27	Glickman, S. G., Marn, C. S., Supiano, M. A., & Dengel, D. R. (2004). Validity and reliability of dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of abdominal adiposity. <i>J Appl Physiol</i> (1985), 97(2), 509-514. doi:10.1152/japplphysiol.01234.2003	Source: Pubmed
28	Hollenberg, M., Ngo, L., Turner, D., & Tager, I. (1998). Treadmill exercise testing in an epidemiologic study of elderly subjects. <i>The Journals of Gerontology</i> , 53a(4), B259-67.	Source: Limo

29	Shanely, R. A., Zwetsloot, K. A., Triplett, N. T., Meaney, M. P., Farris, G. E., & Nieman, D. C. (2014). Human skeletal muscle biopsy procedures using the modified Bergstrom technique. <i>J Vis Exp</i> (91), 51812. doi:10.3791/51812	Source: Pubmed
30	Ganju, A. A., Fuladi, A. B., Tayade, B. O., & Ganju, N. A. (2011). Cardiopulmonary exercise testing in evaluation of patients of chronic obstructive pulmonary disease. <i>Indian J Chest Dis Allied Sci</i> , 53(2), 87-91.	Source: Pubmed
31	McCormack, W. P., Stout, J. R., Emerson, N. S., Scanlon, T. C., Warren, A. M., Wells, A. J., . . . Hoffman, J. R. (2013). Oral nutritional supplement fortified with beta-alanine improves physical working capacity in older adults: a randomized, placebo-controlled study. <i>Exp Gerontol</i> , 48(9), 933-939. doi:10.1016/j.exger.2013.06.003	Source: Pubmed
32	Derave, W., Everaert, I., Beeckman, S., & Baguet, A. (2010). Muscle carnosine metabolism and beta-alanine supplementation in relation to exercise and training. <i>Sports Med</i> , 40(3), 247-263. doi:10.2165/11530310-000000000-00000	Source: Pubmed
33	Rubinsztajn, R., Przybylowski, T., Maskey-Warzechowska, M., Karwat, K., Paplinska-Goryca, M., Nejman-Gryz, P., & Chazan, R. (2014). Effect of exacerbation frequency on body composition and serum ghrelin and adiponectin concentrations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. <i>Pol Arch Med Wewn</i> , 124(7-8), 403-409.	Source: Pubmed
34	Hartmann, A., Knols, R., Murer, K., & de Bruin, E. D. (2009). Reproducibility of an isokinetic strength-testing protocol of the knee and ankle in older adults. <i>Gerontology</i> , 55(3), 259-268. doi:10.1159/000172832	Source: Pubmed
35	Halbert, R. J., Natoli, J. L., Gano, A., Badamgarav, E., Buist, A. S., & Mannino, D. M. (2006). Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. <i>Eur Respir J</i> , 28(3), 523-532. doi:10.1183/09031936.06.00124605	Source: Pubmed
36	Mannino, D. M., & Buist, A. S. (2007). Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. <i>Lancet</i> , 370(9589), 765-773. doi:10.1016/s0140-6736(07)61380-4	Source: Pubmed
37	Stegen, S., Everaert, I., Deldicque, L., Vallova, S., de Courten, B., Ukropcova, B., Derave, W. (2015). Muscle histidine-containing dipeptides are elevated by glucose intolerance in both rodents and men. <i>PLoS One</i> , 10(3), e0121062. doi:10.1371/journal.pone.0121062	Source: Limo
38	Borges, O. (1989). Isometric and isokinetic knee extension and flexion torque in	Source: Pubmed

men and women aged 20-70. *Scand J Rehabil Med*, 21(1), 45-53.

39 Gupta, N., Pinto, L. M., Morogan, A., & Bourbeau, J. (2014). The COPD assessment test: a systematic review. *Eur Respir J*, 44(4), 873-884. doi:10.1183/09031936.00025214

40 Casaburi, R., & Porszasz, J. (2009). Constant work rate exercise testing: a tricky measure of exercise tolerance. *Copd*, 6(5), 317-319.

41 Jenkins, S. C. (2007). 6-Minute walk test in patients with COPD: clinical applications in pulmonary rehabilitation. *Physiotherapy*, 93(3), 175-182. doi:https://doi.org/10.1016/j.physio.2007.02.001

42 C. Brownson and A. R. Hipkiss, "Carnosine reacts with a glycated protein," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 28, no. 10, pp. 1564-1570, 2000.

43 Kharbanda, S., Ramakrishna, A., & Krishnan, S. (2015). Prevalence of quadriceps muscle weakness in patients with COPD and its association with disease severity. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 10, 1727-1735. doi:10.2147/copd.s87791

8. Appendices

Fig. 2: Flowchart of the study

Table 1: Subjects' demographic characteristics

Table 2: Outcome measures of both groups

Fig. 3: Boxplot of the muscle carnosine concentrations between both groups

Fig. 4: Boxplot of the isometric strength of the m. quadriceps at 45° between both groups

Fig. 5: Boxplot of the isometric strength of the m. quadriceps at 90° between both groups

Fig. 6: Boxplot of the isometric predicted m. quadriceps strength at 90° by Borges norm values between both groups

Fig. 7: Boxplot of the isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps between both groups

Fig. 8: Boxplot of the m. quadriceps strength of the right side with the handheld dynamometer between both groups

Fig. 9: Boxplot of the m. quadriceps strength of the left side with the handheld dynamometer between both groups

Fig. 10: Boxplot of muscle carnosine concentrations between GOLD I-II vs. GOLD III-IV groups

Fig. 11: Boxplot of muscle carnosine concentrations between A&C vs. B&D GOLD classification

Fig. 12: Boxplot of muscle carnosine concentrations between >70% vs. <70% of the predicted m. quadriceps strength

Table 3: Correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function parameters

Fig. 13: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isometric strength of the m. quadriceps at 45°

Fig. 14: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isometric strength of the m. quadriceps at 90°

Fig. 15: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isometric predicted m. quadriceps strength at 90° by Borges norm values

Fig. 16: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps

Fig. 17: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and m. quadriceps strength of the right side with the handheld dynamometer

Fig. 18: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and m. quadriceps strength of the left side with the handheld dynamometer

Document 1: Informed consent study protocol 'orale beta-alanine suppletie in patiënten met COPD: structurele, metabole en functionele adaptaties.'

Document 2: Approval of the medical ethics committee

Document 3: Copyright agreement

Document 4: Progress form

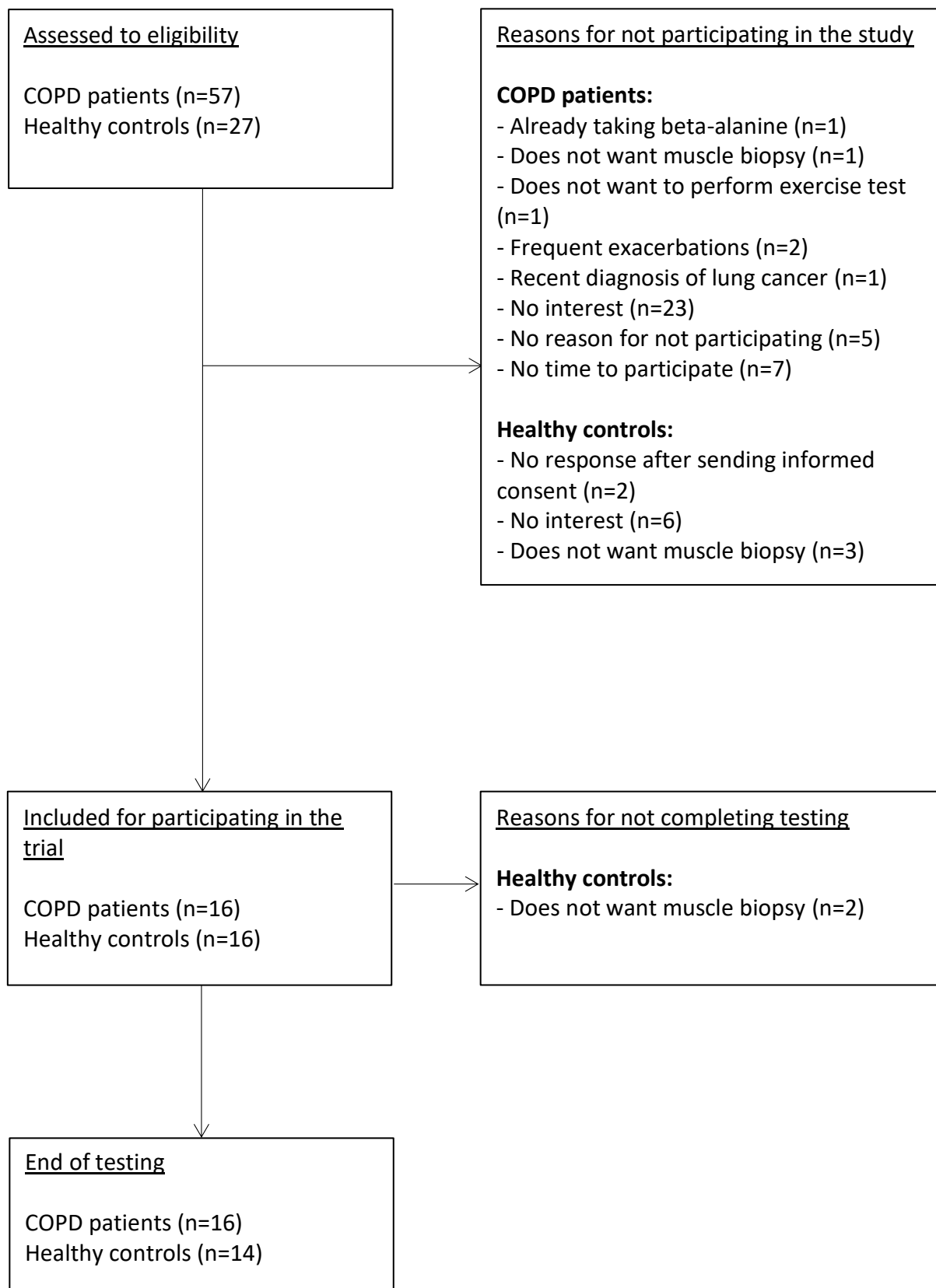


Fig. 2: Flowchart of the study.

Table 1*Subjects' demographic characteristics*

	COPD patients (n=15)	Healthy controls (n=14)
Gender (M/F)	10/5	9/5
Age (years)	66 ± 5	65 ± 5
Height (cm)	168 ± 6	171 ± 8
Body mass (kg)	72.7 ± 15.3	76.9 ± 17
BMI (kg/cm ²)	25.8 ± 5.5	26.0 ± 3.9
Body fat (g)	17751 [25115 - 11601]	21056 [13877 - 24492]
Body fat (%)	28.6 ± 9.2	28.1 ± 6.6
LBM (kg)	45294 ± 7757	48322 ± 11226
Lean mass/height ² (kg/m ²)	18.0 ± 2.4	18.4 ± 2.7
Total mass R leg (g)	10087 ± 1579	11100 ± 2090
Fat mass R leg (g)	2720 ± 1176	2923 ± 810
Smoking [§]		
Yes (regular smoker)	6	0
No (ex-smoker)	9	6
Never (non-smoker)	0	8
GOLD stages		
I (n)	1	-
II (n)	10	-
III (n)	3	-
IV (n)	1	-
Lung function		
FVC, %pred [§]	91.9 [77.2 - 98.7]	112.3 [107.8 - 121]
FEV1, %pred [§]	57.6 ± 13.7	107.8 ± 15.6
FEV1/FVC, % [§]	52.0 ± 11.7	74.7 ± 6.2

DLco, %pred	54.6 ± 11.1	-
VC, %pred	82.0 ± 13.1	-
TLC, %pred	116.3 ± 18.3	-
RV, %pred	179.2 ± 45.9	-
Hospitalization		-
Yes	3	-
No	12	-
Exacerbation		-
Yes	3	-
No	12	-
Clinical rating		
mMRCQ ^{\$}	1 [0 - 1]	0 [0 - 0]
CAT ^{\$}	16 [5 - 19]	4 [2.8 - 6.2]

Data are expressed as mean ± standard deviation (SD) in case the assumptions (normality and homoscedasticity) were met. Otherwise, median [Q1 - Q3] was used.

M males, F females, BMI body mass index, LBM lean body mass, FVC forced vital capacity, FEV1 forced expiratory volume in one second, DLco carbon monoxide diffusion capacity, VC vital capacity, TLC total lung capacity, RV residual volume, mMRCQ medical research council questionnaire, CAT COPD assessment test.

*Significant difference between-groups (p<0.05).

\$ Significant difference between-groups (p<0.01).

Table 2*Outcome measures of both groups*

Parameters	COPD patients (n=15)	Healthy controls (n=14)
Muscle carnosine concentrations - mmol/kg	4.23 ± 1.43	4.74 ± 1.84
Isometric strength of the m. quadriceps at 45° (Biodex) - Nm	103.2 ± 29.5	116.5 ± 37.4
Isometric strength of the m. quadriceps at 90° (Biodex) - Nm	137.8 ± 46.0	151.9 ± 49.3
Isometric predicted m. quadriceps strength at 90° by Borges norm values (Biodex) - %pred	75.9 ± 17.1	85.3 ± 16.1
Isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps (Biodex) - Joule	1099.63 ± 319.30	1328.50 ± 385.44
Quadriceps strength (Microfet) right side - Newton*	217.1 [187.3 - 301.6]	271.18 [260.5 - 378.9]
Quadriceps strength (Microfet) left side - Newton	230.0 [187.3 - 304.0]	285.0 [225.0 - 396.5]

Data are given as mean ± SD (in case normality and homoscedasticity were met) or median [Q1 - Q3] (in case normality and homoscedasticity weren't met).

*Significant difference between-groups (p<0.05).

§ Significant difference between-groups (p<0.01).

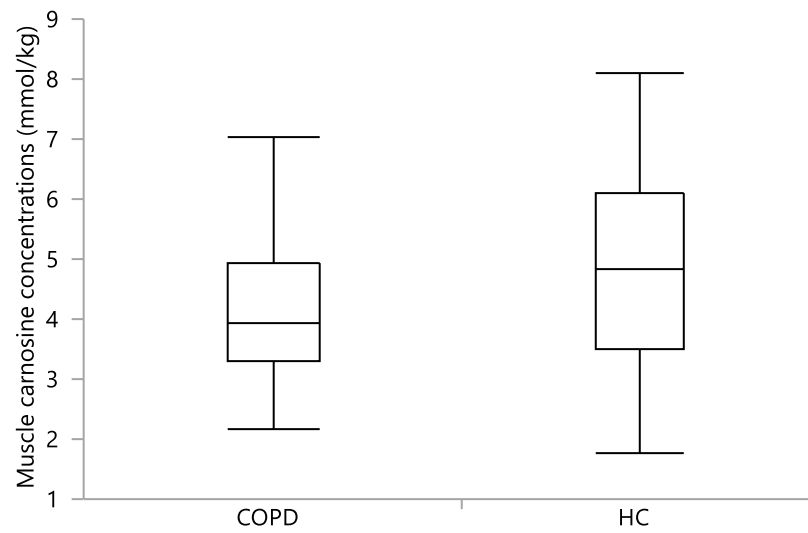


Fig. 3: Boxplot of the muscle carnosine concentrations between both groups

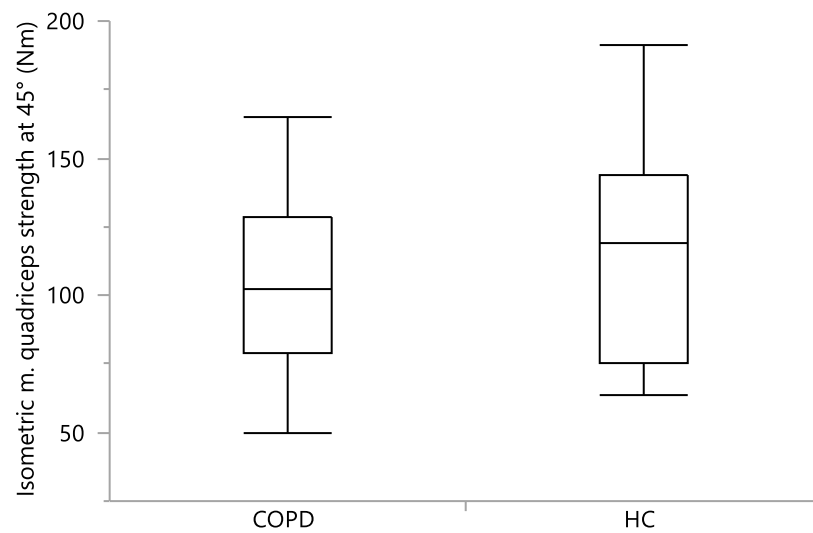


Fig. 4: Boxplot of the isometric strength of the m. quadriceps at 45° between both groups

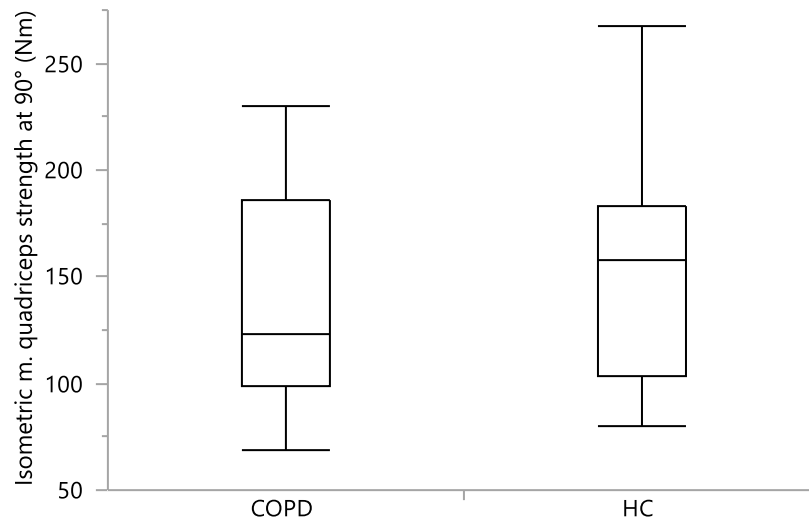


Fig. 5: Boxplot of the isometric strength of the m. quadriceps at 90° between both groups

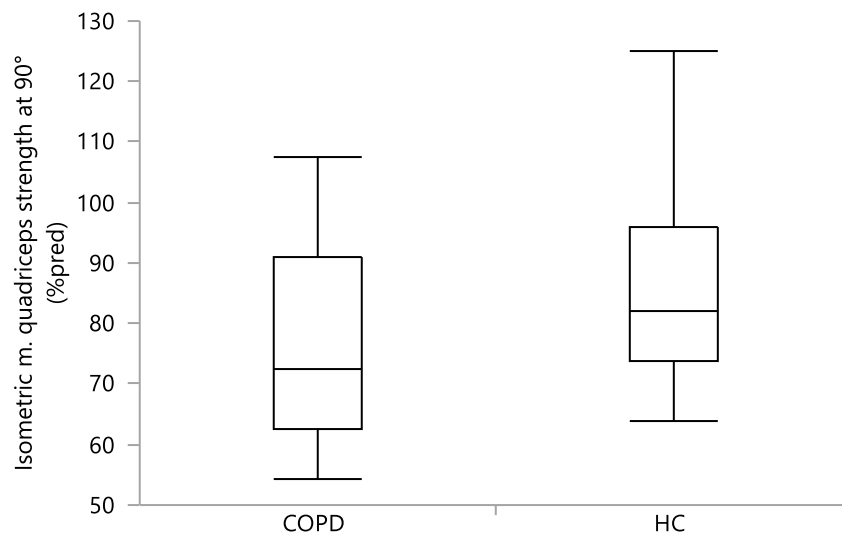


Fig. 6: Boxplot of the isometric predicted m. quadriceps strength at 90° by Borges norm values between both groups

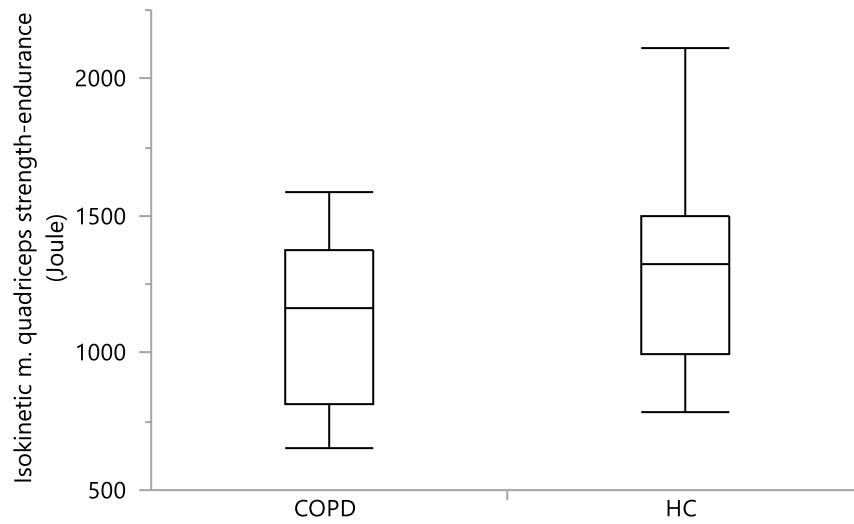


Fig. 7: Boxplot of the isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps between both groups

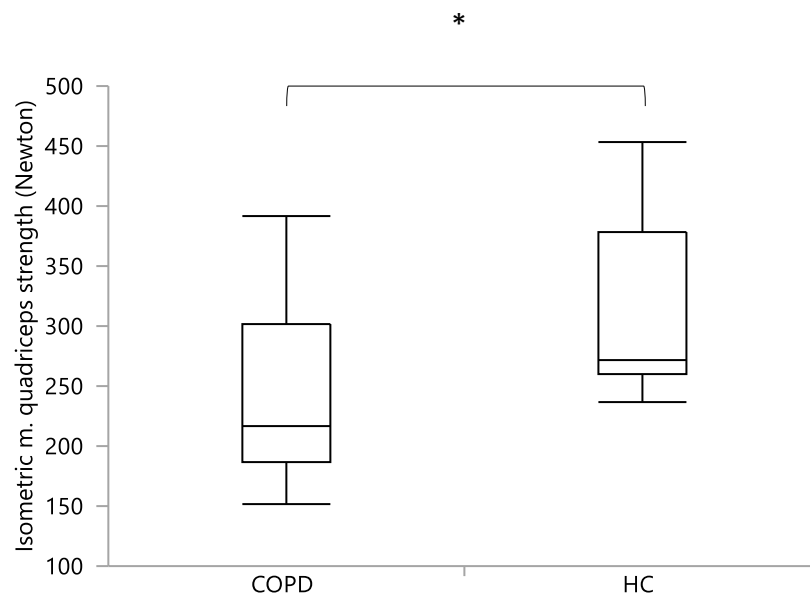


Fig. 8: Boxplot of the m. quadriceps strength of the right side with the handheld dynamometer between both groups

*Significant difference between-groups ($p < 0.05$).

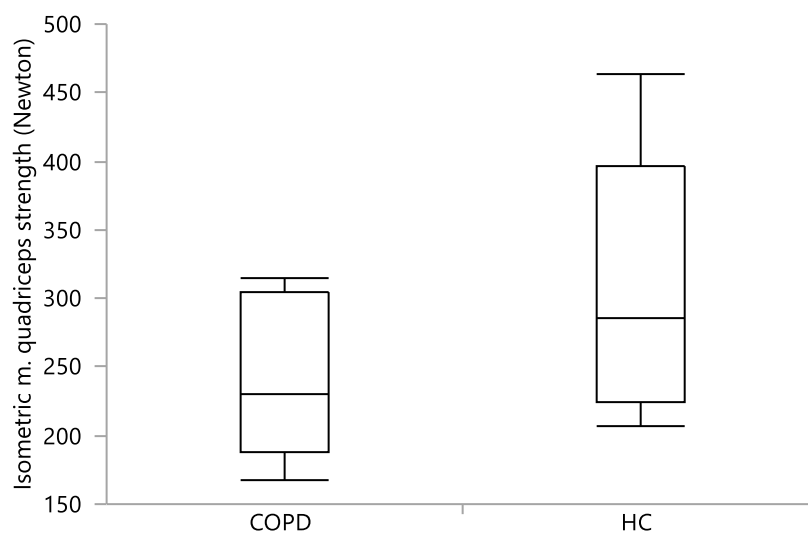


Fig. 9: Boxplot of the m. quadriceps strength of the left side with the handheld dynamometer between both groups

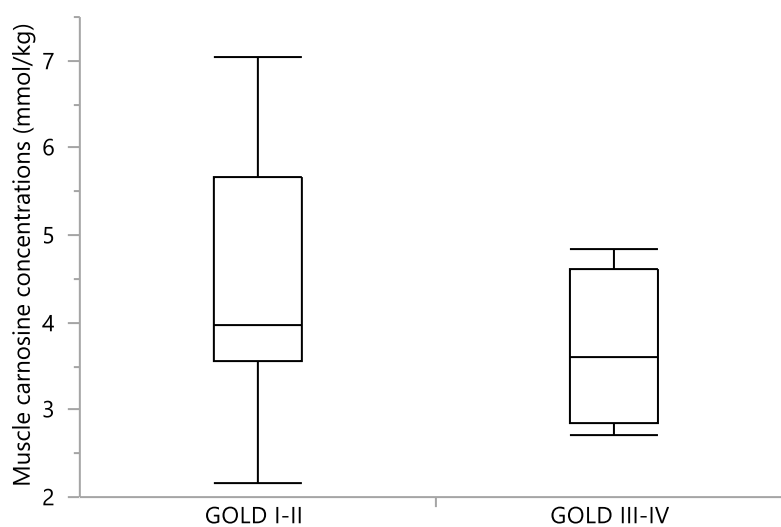


Fig. 10: Boxplot of muscle carnosine concentrations between GOLD I-II vs. GOLD III-IV groups

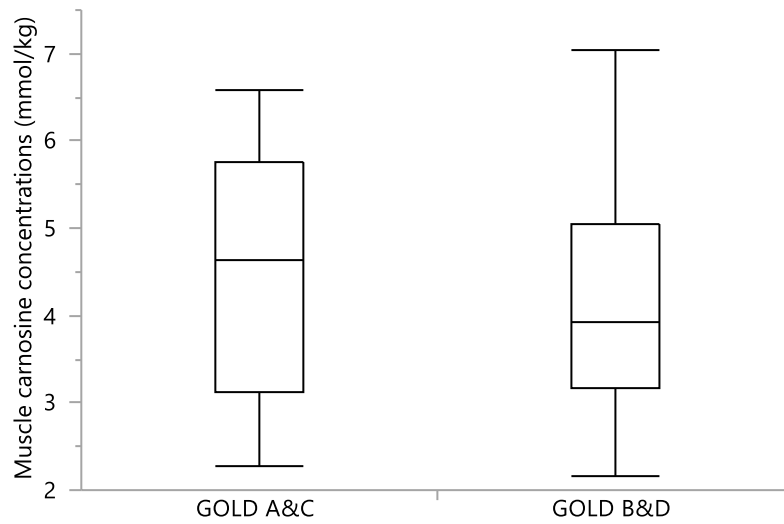


Fig. 11: Boxplot of muscle carnosine concentrations between A&C vs. B&D GOLD classification

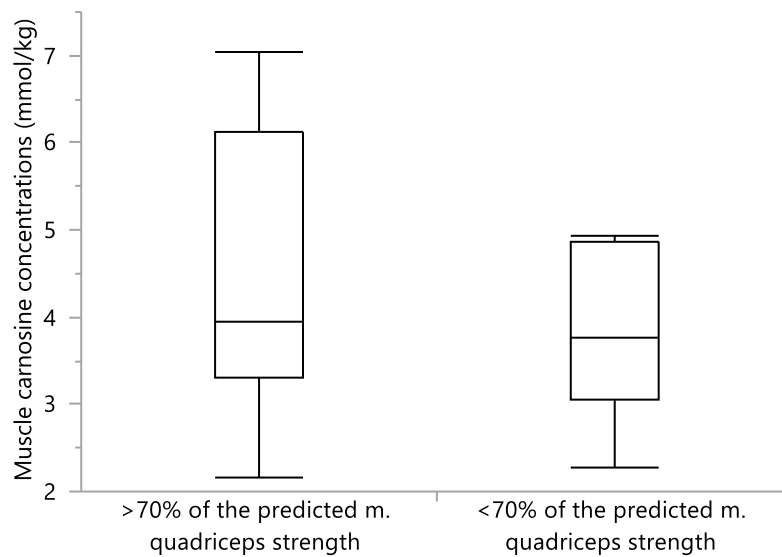


Fig. 12: Boxplot of muscle carnosine concentrations between >70% vs. <70% of the predicted m. quadriceps strength

Table 3

Correlation between muscle carnosine concentrations and muscle function parameters

Muscle carnosine concentrations and “muscle function parameter”	Significance probability (p-value)	Correlation (r-value)
Isometric strength of the m. quadriceps at 45° (Biodex) - Nm	0.07	0.49
Isometric strength of the m. quadriceps at 90° (Biodex) - Nm	0.08	0.47
Isometric predicted m. quadriceps strength at 90° by Borges norm values (Biodex) - %pred	0.02*	0.59
Isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps (Biodex) - Joule	0.05	0.51
Quadriceps strength of the right side (Microfet) - Newton	0.95	0.03
Quadriceps strength of the left side (Microfet) - Newton	0.57	0.26
Nm Newton-meters		

*Significant difference between-groups ($p < 0.05$).

§ Significant difference between-groups ($p < 0.01$).

For the scatterplots showed underneath. All the male patients are shown on the basis of diamonds and the female patients are represented by crosses.

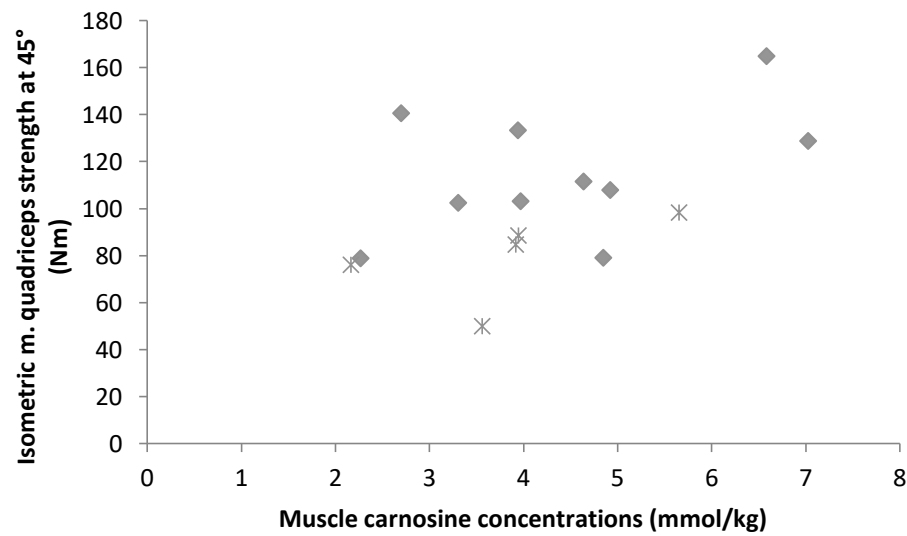


Fig. 13: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isometric strength of the m. quadriceps at 45°

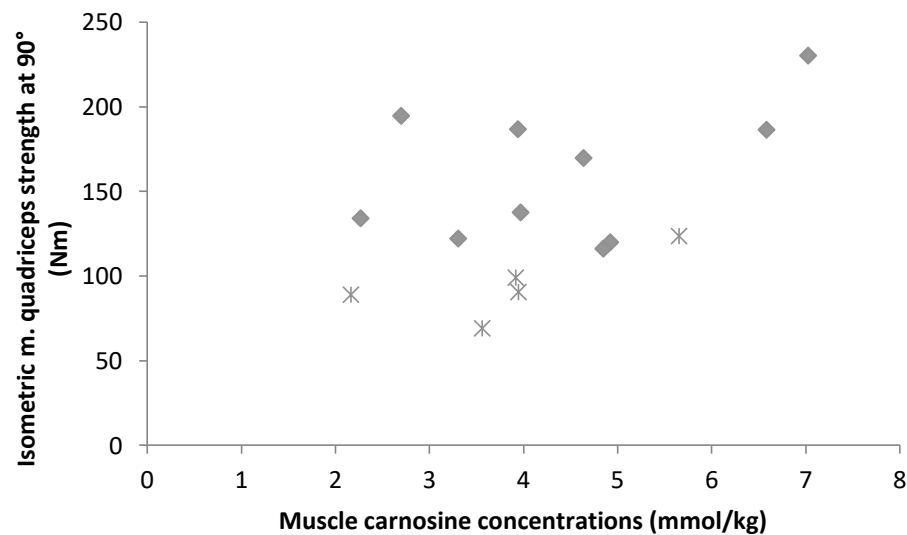


Fig. 14: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isometric strength of the m. quadriceps at 90°

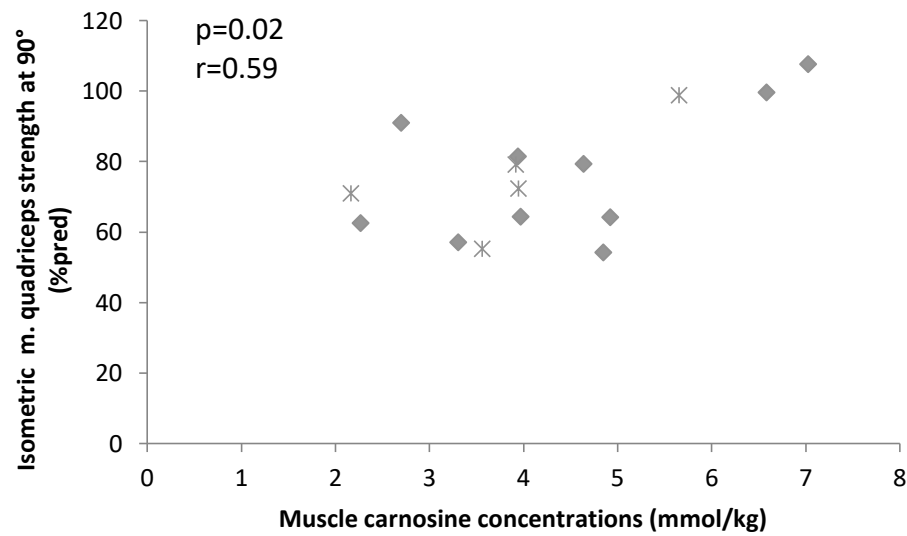


Fig. 15: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isometric predicted m. quadriceps strength at 90° by Borges norm values

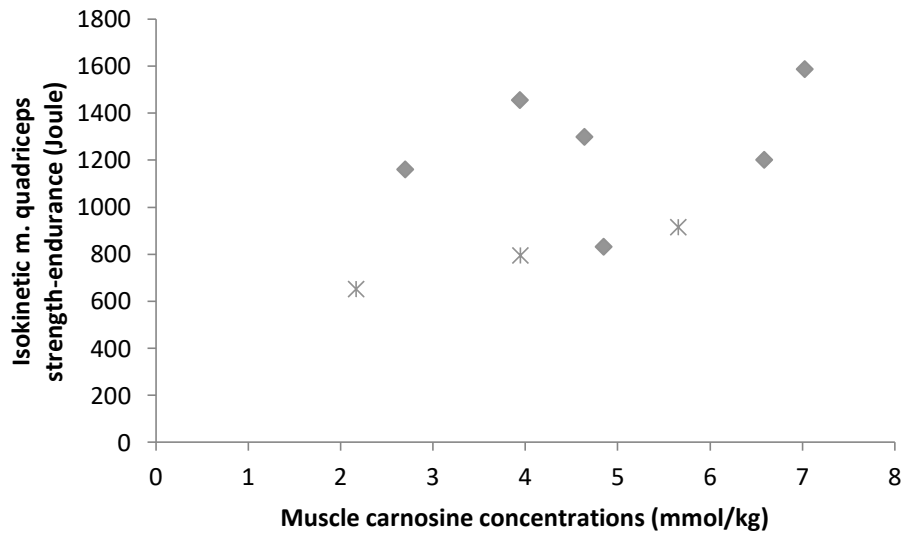


Fig. 16: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and isokinetic strength-endurance of the m. quadriceps

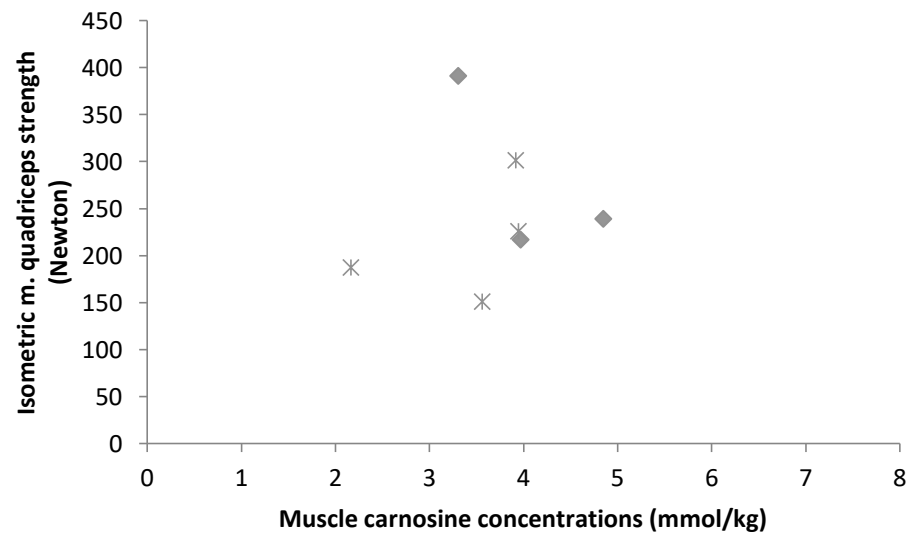


Fig. 17: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and m. quadriceps strength of the right side with the handheld dynamometer

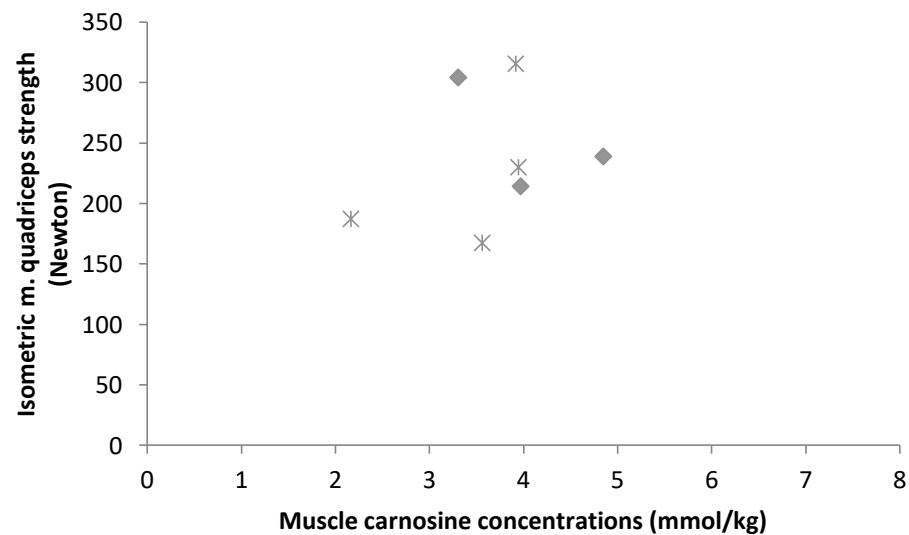


Fig. 18: Scatterplot Matrix of the correlation between muscle carnosine concentrations and m. quadriceps strength of the left side with the handheld dynamometer

Document 1

Informed consent study protocol 'orale beta-alanine suppletie in patiënten met COPD: structurele, metabole en functionele adaptaties.'

Geïnformeerde toestemming

Titel van de studie: Orale beta-alanine suppletie in patiënten met COPD: structurele, metabole en functionele adaptaties.

Opdrachtgever: Universiteit Hasselt, Agoralaan, gebouw D, Diepenbeek

Onderzoeksinstelling: REVAL - Rehabilitation Research Center

Comité voor Medische Ethiek: Ethische toetsingscommissie Jessa Ziekenhuis en Commissie Medische Ethiek van de Universiteit Hasselt

Lokale arts-onderzoekers:

1. Universitaire Campus, Universiteit Hasselt, gebouw A

Naam lokale onderzoekers revalidatiewetenschappen: prof. Martijn Spruit, Jana De Brandt

E-mailadres lokale onderzoeker: jana.debrandt@uhasselt.be

2. Jessa Ziekenhuis, campus Virga Jesse, Hasselt

Naam lokale onderzoekers arts/specialist: Paul Dendale

E-mailadres lokale onderzoeker: paul.dendale@uhasselt.be

I. Noodzakelijke informatie voor uw beslissing om deel te nemen

Inleiding

U wordt uitgenodigd om deel te nemen aan een klinische studie waarbij zal gekeken worden naar het effect van toediening van een voedingssupplement, genaamd beta-alanine, op de concentratie van carnosine in de spier en verschillende andere spierkarakteristieken van uw bovenbeenspier, uw inspanningscapaciteit en uw levenskwaliteit.

Voordat u beslist over uw deelname aan deze studie willen we u wat meer informatie geven over wat dit betekent op organisatorisch vlak en wat de eventuele voordelen en risico's voor u zijn. Zo kan u een beslissing nemen op basis van de juiste informatie. Dit wordt "geïnformeerde toestemming" genoemd.

Wij vragen u de volgende pagina's met informatie aandachtig te lezen. Hebt u vragen, dan kan u terecht bij de onderzoeker of zijn of haar vertegenwoordiger. Dit document bestaat uit 3 delen: essentiële informatie die u nodig heeft voor het nemen van uw beslissing, uw schriftelijke toestemming en bijlagen waarin u meer details terugvindt over bepaalde onderdelen van de basisinformatie.

Als u aan deze klinische studie deelneemt, dient u het volgende te weten:

Deze klinische studie wordt opgestart na evaluatie door de ethische toetsingscommissie van het

Jessa Ziekenhuis en de Commissie Medische Ethiek van de Universiteit Hasselt.

Uw deelname is vrijwillig; er kan op geen enkele manier sprake zijn van dwang. Voor deelname is uw ondertekende toestemming nodig. Ook nadat u hebt getekend, kan u de onderzoeker laten weten dat u uw deelname wilt stopzetten.

De gegevens die in het kader van uw deelname worden verzameld, zijn vertrouwelijk. Bij de publicatie van de resultaten is uw anonimiteit verzekerd.

Er worden u geen kosten aangerekend voor specifieke behandelingen, bezoeken / consultaties, onderzoeken in het kader van deze studie.

Er is een verzekering afgesloten voor het geval dat u schade zou oplopen in het kader van uw deelname aan deze klinische studie.

Indien u extra informatie wenst, kan u altijd contact opnemen met de arts-onderzoeker of een medewerker van zijn of haar team.

Aanvullende informatie over “Rechten van de deelnemer aan een klinische studie” vindt u in bijlage 2.

Doelstelling van de studie

Het eerste doel van de studie is om spierkarakteristieken, inspanningscapaciteit en levenskwaliteit te meten bij patiënten met chronisch obstructief longlijden (COPD) zodat die vergeleken kunnen worden met die van gezonde ouderen. Het voornaamste doel is om een dipeptide genaamd carnosine, die zich in elke spiercel bevindt, in de bovenbeenspier te bekijken. Carnosine speelt een belangrijke rol in de spiercel op vlak van energievoorziening en het elimineren van schadelijke stoffen. Een pilootstudie heeft aangetoond dat de concentratie van deze dipeptide verlaagd is bij patiënten met COPD in vergelijking met gezonde subjecten. Het uitvoeren van dit onderzoek op grotere schaal is nodig om deze bevindingen te bevestigen. Verder zal er ook onderzocht worden of er een verband is tussen de hoeveelheid carnosine in de spier en met andere spierkarakteristieken, inspanningscapaciteit en levenskwaliteit. Het tweede doel van de studie is om carnosine in de spier te verhogen d.m.v. toediening van een voedingssupplement, genaamd beta-alanine, en om de effecten na te gaan die dit heeft op de inspanningscapaciteiten en levenskwaliteit van COPD patiënten. Toediening van beta-alanine bij gezonde mensen heeft een positieve invloed op de inspanningscapaciteit. Met deze suppletie studie willen we nagaan of we dezelfde effecten kunnen bereiken bij patiënten met COPD. Bij deze studie heeft u de kans dat u in de supplement groep of in de placebo groep terecht komt. Dit betekent dat u ofwel het echte beta-alanine supplement zult innemen of een namaak supplement dat geen werking heeft. Enkel op deze manier kunnen er conclusies getrokken worden over het effect van beta-alanine op inspanningscapaciteit en levenskwaliteit.

Verloop van de studie

De studie bestaat uit vier testdagen die gespreid worden over 1 à 2 weken die doorgaan in het Jessa Ziekenhuis en/of aan de UHasselt op Campus Diepenbeek gebouw A (REVAL). Na 12 weken suppletie van beta-alanine of placebo zal u opnieuw gevraagd worden om de hele testbatterij te doorlopen. Op de testdagen zullen gegevens voor onze studie verzameld worden, waaronder lengte, gewicht, longfunctie en het invullen van enkele vragenlijsten.

Uw fysiek functioneren zal eveneens gemeten worden o.a. via vier testen: de 4 meter wandel test (u wordt gevraagd om vier meter te stappen aan een normale wandelsnelheid - uw snelheid wordt genoteerd) en de 6 minuten wandeltest (u wordt gevraagd om in 6 minuten zo ver mogelijk te wandelen

- uw gewandelde afstand wordt genoteerd) en via twee inspanningstesten (maximaal en submaximaal) op de fiets met veneuze bloedafname voor en na de inspanning. Tijdens beide inspanningstesten op de fiets zal uw ademhaling, hartritme en bloeddruk gemonitord worden. Tijdens de maximale inspanningstest zal u het gevoel hebben dat u fietst op een helling die steeds steiler wordt. Hier probeert u te fietsen tot u het gevoel hebt dat u niet meer kan. Tijdens de submaximale inspanningstest zal u fietsen tegen een bepaalde onveranderlijke weerstand (75% van de maximale bepaalde weerstand gebaseerd op de maximale inspanningstest) en fietst u opnieuw tot u het gevoel heeft dat u niet meer kan. Uw bloed zal geanalyseerd worden in een gespecialiseerd laboratorium aan de Universiteit Hasselt . Het afgenomen bloed wordt bewaard in de Universitaire Biobank Limburg (UBiLim) tot deze geanalyseerd worden. Het overblijvend materiaal zal bewaard worden in de biobank (UBiLim) voor toekomstig wetenschappelijk onderzoek.

Uw spierkracht zal worden gemeten met behulp van verschillende toestellen. Handknijpkracht wordt gemeten door het handvat van een toestel zo krachtig mogelijk dicht te knijpen. Kracht van de bovenbeenspier zal worden gemeten door zo krachtig mogelijk tegen een toestel te duwen dat de onderzoeker tegen uw onderbeen zal houden en via het duwen tegen een weerstand in een gestandaardiseerd toestel. De kracht van uw ademspieren wordt gemeten door zo krachtig mogelijk in te ademen door een mondstuk dat u zelf in uw mond steekt.

Uw lichaamssamenstelling zal worden bepaald door een zogenaamde bio-impedantiemeting. Tijdens deze test plakken we enkele plakkers op uw handen en voeten waarna er een wisselstroom door uw lichaam vloeit. Deze stroom is volledig onschadelijk en u zult dit ook helemaal niet gewaarworden. Op basis van de stroomgeleiding kan de lichaamssamenstelling (hoeveelheid water, vetmassa, ...) worden berekend. Uw botkwaliteit zal ook gemeten worden via een soort RX meting, namelijk de DXA scan.

Uw bloeddruk zal worden genomen met een automatische bloeddrukmeter, zowel ter hoogte van de van de bovenarm als ter hoogte van de enkel. De vergelijking van deze twee leert ons wat over uw vaatfunctie. Er wordt eveneens een cardiogram van het hart gemaakt om de hartslag in rust te bepalen en het functioneren van het hart te bekijken.

Tenslotte zal er een spierbiopt genomen worden uit uw bovenbeenspier om uw Carnosine in de spier en andere spierkarakteristieken te bepalen. Na plaatselijke verdoving van de bovenbeenspier (zoals bij de tandarts) zal de arts een kleine incisie maken (0.5 - 1 cm) en met een bioptnaald een stukje spier biopteren. Deze incisie moet niet worden gehecht en wordt dichtgeplakt met hechtstrips. Wanneer u terug komt voor een tweede biopt na de suppletie periode dan wordt de biopsie in hetzelfde bovenbeen uitgevoerd, ongeveer 2 - 3 cm verwijderd van de vorige incisie. De afgenomen spierstalen worden bewaard in de Universitaire Biobank Limburg tot deze geanalyseerd worden. Het overblijvend materiaal zal bewaard worden in de biobank (UBiLim) voor toekomstig wetenschappelijk onderzoek. Op de dag van het biopt, wordt er eveneens een nuchter bloedstaal (50 ml) afgenomen. Het is dus belangrijk dat u nuchter bent. Dit houdt in dat u enkel water mag drinken tot aan de bloedafname. Een ontbijt wordt voor u voorzien. Uw medicatie neemt u best mee, zodat u deze kan innemen tijdens het ontbijt. Een deel van het nuchter bloedstaal wordt bewaard in de Universitaire Biobank Limburg tot

deze geanalyseerd worden. Het overblijvend materiaal zal bewaard worden in de biobank (UBiLim) voor toekomstig wetenschappelijk onderzoek. Een ander deel van het nuchter bloedstaal wordt dadelijk naar het klinisch labo gebracht voor een routine bloedanalyse.

Risico's en ongemakken

De DXA scan is een RX meting en gaat dus gepaard met minieme vormen van röntgenstraling. De hoeveelheid straling waaraan uw lichaam tijdens deze scan wordt blootgesteld is vergelijkbaar met de straling die u absorbeert tijdens een retour vlucht naar Amerika of gedurende negen dagen dagelijks leven in Vlaanderen.

Er zal veneus bloed worden afgenomen voor en na de inspanningstesten op de fiets, en op een nuchter moment. Dit gebeurt op verschillende dagen. Per bloedafname zal er ongeveer 50 - 65 ml bloed worden afgenomen. Het nemen van het bloedstaal houdt geen noemenswaardige risico's in. Na de bloedafname kan er een kleine blauwe plek (hematoom) in de elleboogplooï ontstaan en kan het voor komen dat men op deze plek de polsslag voelt.

Voor u een spierbiopsie ondergaat is het noodzakelijk te melden aan de arts-onderzoeker of u bloedverdunners neemt en of u gevoelig bent voor jodium. Het nemen van een spierbiopsie door een deskundig persoon kan licht pijnlijk zijn, doch er zijn geen ernstige risico's voor de gezondheid aan verbonden. Er wordt in geen geval definitieve 'schade' aan de spier aangebracht door het nemen van een naaldbiopsie. Het risico van een ontsteking van het wondje kan echter nooit uitgesloten worden. Tevens kan er een lokale bloeding optreden in de spier waardoor er een blauwe plek kan ontstaan. Zeer uitzonderlijk zal, als gevolg van beschadiging van een lokale gevoelszenuw, de gevoeligheid van de huid rond het wondje verdwijnen gedurende een periode van maximaal 3 maanden. Normaal moet binnen de 3 dagen na het biopsie de lokale ongevoeligheid volledig verdwenen zijn. Het is belangrijk dat u niet alleen komt met de auto aangezien u niet zelf mag rijden na de afname van een spierbiopsie. Eveneens is het belangrijk dat u het verband enkele dagen op de wonde laat. Indien het verband nat wordt, moet u het vervangen. Indien het verband doorbloed raakt, dan moet u contact opnemen met uw huisarts. Na 5 dagen mag u de hechtstrips verwijderen. U zal een fijn litteken overhouden op de plaats waar het biopsie genomen werd.

De inname van het beta-alanine supplement (SR CarnoSyn[®], Natural Alternatives International, USA) of de placebo gebeurt 4x per dag. U neemt dus gespreid over de dag 4 pillen in, liefst in combinatie met een maaltijd. Indien u een pil vergeet, vragen wij u om deze niet samen te nemen met de volgende pil. Neem dus altijd steeds maar 1 pil in per keer. Een mogelijke bijwerking van het innemen van beta-alanine is een onprettig prikkelend, tintelend of brandend gevoel in de huid (armen, romp, aangezicht) dat omkeerbaar is binnen het uur. Dit ongemak is echter niet schadelijk en volledig omkeerbaar. Indien deze bijwerking u teveel zou belasten, vragen wij u om dadelijk contact op te nemen met ons. U zal 3 potjes met pillen (dit volstaat voor 12 weken) en een dagboek meekrijgen. In het dagboek noteert u wanneer u elke pil heeft ingenomen. Indien u de pillen correct inneemt dan is 1 potje voldoende voor 4 weken.

Uw deelname aan deze studie vraagt een tijdsinvestering. Uiteraard plannen we deze onderzoeken steeds in overleg met u. Hieronder ziet u een mogelijke tijdsindeling van het onderzoek (tabel 1).

Universitaire Biobank Limburg (UBiLim)

Er wordt gestreefd om elke staal maximaal te benutten. Indien u deelneemt aan deze studie, kan uw lichaamsmateriaal worden gebruikt voor toekomstig onderzoek, zonder dat hiervoor opnieuw uw toestemming wordt gevraagd of dat u hiervan wordt verwittigd. Onderzoekers die wensen onderzoek uit te voeren met behulp van deze stalen, moeten hiervoor een akkoord afsluiten dat het gebruik van deze stalen en bijhorende data controleert. Het materiaal en de informatie opgeslagen in de UBiLim wordt enkel aan onderzoekers beschikbaar gesteld na voorafgaande wetenschappelijke goedkeuring door UBiLim en ethische goedkeuring door de betrokken Comités voor Medische Ethiek.

Waarom lichaamsmateriaal afnemen en bewaren voor onderzoek? Onderzoek op lichaamsmateriaal kan meer inzicht leveren in het ontstaan van ziektes en hoe ze kunnen voorkomen worden. Dit kan resulteren in betere methoden voor het stellen van een diagnose of prognose en uiteindelijk leiden tot betere behandelingswijzen. Aldus kan in de toekomst een beter antwoord gevonden worden op vele vragen rond allerlei ziekten. Uw materiaal zal enkel voor onderzoeksdoeleinden worden gebruikt en zal niet worden verkocht.

Contactgegevens: Universitaire Biobank Limburg, biobank@jessazh.be, Stadsomvaart 11, B-3500

Hasselt, T (+32) (0) 11 33 82 54, www.ubilim.be

	Test dag	Voor suppletie	Na suppletie
Leeftijd en gender	1	X	
Lengte en gewicht	1	X	X
Maximale inspanningstest + veneuze bloedafname	2	X	X
Submaximale inspanningstest + veneuze bloedafname	3	X	X
4m wandel test	1	X	X
6 min wandel test	1	X	X
Quadriceps kracht (microfet)	1	X	X
Quadriceps kracht (biodex)	1	X	X
Handknijpkracht	1	X	X
Inspiratoire en expiratoire spierkracht	1	X	X
Long -en hartfunctie test	1, 2 & 3	X	X
Nuchtere veneuze bloedstaal	4	X	X
Dagelijkse fysieke activiteit	1	X	X
Vragenlijsten			
- Charlson Comorbidity Index	1	X	X
- COPD Assessment Test	1	X	X
- EQ-5D	1	X	X
- mMRC kortademigheid	1	X	X
- Multidimensionale vermoeidheidsschaal	1	X	X
Bio-elektrische impedantie	1	X	X
Bloeddruk	1	X	X
DXA scan	1	X	X
Spierbiopsie	4	X	X
Exacerbaties/hospitalisaties laatste 12 maanden	1	X	
Exacerbaties/hospitalisaties tijdens interventie	1		X
Medicatie inname	1	X	X
Suppletie informatie en dagboek	4	X	X

Tabel 1. Tijdsindeling testdagen. Test dag 2 en 3 gaan door in het Jessa Ziekenhuis. Test dag 1 en 4 gaan door in Campus Diepenbeek, Universiteit Hasselt.

Voordelen

Indien u besluit om aan deze studie deel te nemen, brengt dit geen rechtstreekse voordelen met zich mee. Uw inspanningsvermogen en de onderliggende systemen hiervoor worden echter wel van erg nabij opgevolgd door de onderzoekers, die eventuele belangrijke bevindingen hieromtrent met uw behandelende arts zullen bespreken.

Voor elke verplaatsing worden uw verplaatsingskosten vergoed en u krijgt ook een boekenbon cadeau ter waarde van 20 euro. Na het beëindigen van de studie krijgt u, indien u dit wenst, een overzicht van uw resultaten binnen het onderzoek. Afwijkende resultaten worden altijd doorgegeven aan uw huisarts. Patiënten in de placebo groep zullen de kans krijgen, indien u dit wenst, om beta-alanine te suppleren na de afloop van de studie, indien beta-alanine suppletie positieve effecten lijkt te hebben op de spierkarakteristieken, inspanningscapaciteit en levenskwaliteit. Om u inzicht te verwerven over de kostprijs van de inname van dit supplement op langere termijn hebben wij een kostenberekening per jaar uitgevoerd. Deze jaarlijkse kost is gelijk aan ongeveer 450 - 500 euro. Deze kostenberekening is gebaseerd op een vrij te verkrijgen beta-alanine supplement dat op de markt is in België. U moet wel weten dat wij tijdens deze studie beta-alanine toedienen van een producent uit de Verenigde Staten van Amerika die vaak betrokken is bij onderzoek over supplementen (zie voorgaande uitleg over het supplement). Indien u interesse heeft om langere termijn het supplement in te nemen, raden wij het u aan om contact op te nemen met ons zodat wij u het best mogelijke advies kunnen voorleggen.

Uw deelname aan het onderzoek kan bovendien gezien worden als een onbaatzuchtige participatie in wetenschappelijk onderzoek, die ons helpt om patiënten in de toekomst nog beter te kunnen helpen.

Verzekering

Deelname aan deze studie zal voor u geen extra kosten met zich meebrengen. Alle onkosten zijn ten laste van de onderzoekers. Indien er zich in de loop van het onderzoek problemen voordoen als direct gevolg van uw deelname aan de studie, kan er beroep worden gedaan op de polis die het onderzoeksteam heeft afgesloten voor de verzekering van proefpersonen die participeren in het wetenschappelijk onderzoek. De UBiLim heeft een verzekeringspolis afgesloten die de eventuele risico's en/of schade gekoppeld aan bewaring van het lichaamsmateriaal en gegevens in een biobank denkt.

Indien u moeilijkheden ondervindt met vervoer van en naar de UHasselt Campus te Diepenbeek en/of het Jessa Ziekenhuis te Hasselt is het mogelijk dat de onderzoeker vervoer voor u regelt of u komt ophalen. U weet dat uw transport met de wagen van de onderzoeker, met de onderzoeker als bestuurder van de wagen, naar de UHasselt Campus te Diepenbeek en/of het Jessa Ziekenhuis op eigen risico is. De UHasselt is niet aansprakelijk bij een ongeluk of incident.

Vertrouwelijkheid

Het onderzoeksteam staat er garant voor dat zowel uw persoonlijke gegevens als alle onderzoeksresultaten die voortvloeien uit deze studie, op een vertrouwelijk, gecodeerde manier zullen behandeld worden in overeenstemming met artikel 7 en volgens de 'Wet op het Privéleven met Betrekking tot de Behandeling van Persoonlijke Gegevens' van 8 december 1992. Uw persoonlijke onderzoeksgegevens kunnen, met toestemming, slechts door daartoe gemachtigde medewerkers van de Universiteit Hasselt en de Commissie Medische Ethiek worden ingezien. De onderzoeksresultaten van deze studie zullen bekend gemaakt worden op congressen en gepubliceerd worden in wetenschappelijke tijdschriften, echter zonder dat uw identiteit bekend gemaakt wordt.

Het risico gepaard met bewaring van lichaamsmateriaal in een biobank bestaat uit het ongeoorloofd verspreiden van uw persoonlijke informatie. De Universitaire Biobank Limburg neemt alle voorzorgsmaatregelen in acht om te verzekeren dat uw gegevens vertrouwelijk blijven.

Stopzetting van de deelname

Uw deelname is vrijwillig. U hebt het recht om uw deelname aan de studie om eender welke reden en zonder opgave van redenen stop te zetten. Wel kan het voor de arts-onderzoeker en de opdrachtgever nuttig zijn om te weten of u zich terugtrekt omdat de aan de studiebehandeling verbonden beperkingen te zwaar zijn (bijvoorbeeld een te grote tijdsinvestering). Bij stopzetting wordt uw lichaamsmateriaal dat bewaard wordt in de biobank onmiddellijk vernietigd. U neemt hiervoor best contact op met de onderzoeker (Prof. Dr. Martijn Spruit) of met de UBILim.

Indien u aan deze studie deelneemt, vragen wij u het volgende:

Tenvolle mee te werken voor een correct verloop van de studie.

Geen informatie over uw gezondheidstoestand, de geneesmiddelen die u gebruikt of de symptomen die u ervaart te verzwijgen.

Goedkeuring van dit onderzoek

Dit onderzoek werd goedgekeurd door de Ethische toetsingscommissie Jessa en Commissie Medische Ethiek van de Universiteit Hasselt. Nadat u deze informatie heeft gelezen, kan u steeds bij ons terecht voor vragen en/of meer informatie. Wanneer u voldoende bedenktijd heeft gehad, wordt u gevraagd om te beslissen over deelname aan dit onderzoek. Indien u toestemming tot deelname geeft, dient u het bijbehorende toestemmingsformulier te ondertekenen. U krijgt een kopie van deze informatie en van het getekende toestemmingsformulier indien u besluit mee te doen.

Prof Martijn Spruit

REVAL - Rehabilitation Research Center

Agoralaan gebouw

A B-3590

Diepenbeek

Contact

Als u bijkomende informatie wenst, maar ook ingeval van problemen of als u zich zorgen maakt, kan u contact opnemen met de onderzoeker (Prof Martijn Spruit) of een medewerker van zijn/haar studieteam (Jana De Brandt) op het telefoonnummer 011/26 93 70 of via jana.debrandt@uhasselt.be.

Titel van de studie: Orale beta-alanine suppletie in patiënten met COPD : structurele, metabole en functionele adaptaties

II Aanvullende informatie

Aanvullende informatie over de bescherming en de rechten van deelnemers aan een klinische studie

Ethische comités

Deze studie werd geëvalueerd door een onafhankelijk ethisch comité (Toetsingscommissie Medische Ethiek van het Jessa Ziekenhuis en Commissie Medische Ethiek van de Universiteit Hasselt) dat een gunstig advies heeft uitgebracht. De ethische comités hebben als taak de personen die aan klinische studies deelnemen te beschermen. Ze controleren of uw rechten als patiënt en als deelnemer aan een studie gerespecteerd worden, of - uitgaande van de huidige kennis - de balans tussen risico's en voordelen gunstig is voor de deelnemers, of de studie wetenschappelijk relevant en ethisch verantwoord is. Hierover brengen de ethische comités een advies uit in overeenstemming met de Belgische wet van 7 mei 2004. U dient het positief advies van de Ethische Comités in geen geval te beschouwen als een aansporing om deel te nemen aan deze studie.

Vrijwillige deelname

Aarzel niet om alle vragen te stellen die bij u opkomen voordat u tekent. Neem de tijd om er over te praten met een vertrouwenspersoon indien u dat wenst.

U heeft het recht om niet deel te nemen aan deze studie of met deze studie te stoppen, zonder dat u hiervoor een reden hoeft te geven, zelfs al hebt u eerder toegestemd om aan deze studie deel te nemen. Uw beslissing zal in geen geval uw relatie met de arts-onderzoeker beïnvloeden.

Als u aanvaardt om aan deze studie deel te nemen, ondertekent u het toestemmingsformulier. De arts-onderzoeker zal dit formulier ook ondertekenen en zal zo bevestigen dat hij u de noodzakelijke informatie over deze studie heeft gegeven. U zal het voor u bestemde exemplaar ontvangen.

Voor uw veiligheid is het wel aanbevolen om de arts-onderzoeker op de hoogte te stellen indien u besluit uw deelname aan de studie stop te zetten.

Kosten in verband met uw deelname

Indien u besluit om aan deze studie deel te nemen, brengt dit geen bijkomende kosten met zich mee voor u of voor uw verzekeringsmaatschappij. De bezoeken en procedures die behoren tot deze studie en die vermeld worden in de beschrijving van het verloop van de studie worden door de opdrachtgever betaald.

Vertrouwelijkheidsgarantie

Uw deelname aan de studie betekent dat u ermee akkoord gaat dat de arts-onderzoeker gegevens over u verzamelt en dat de opdrachtgever van de studie die gebruikt voor onderzoek en in het kader van wetenschappelijke en medische publicaties.

U hebt het recht om aan de arts-onderzoeker te vragen welke gegevens hij/zij over u heeft verzameld en waarvoor ze gebruikt worden in het kader van de studie. Deze gegevens hebben betrekking op uw huidige klinische situatie maar ook op uw medische voorgeschiedenis en op de resultaten van onderzoeken die werden uitgevoerd voor de behandeling van uw gezondheid volgens de geldende zorgstandaard. U hebt het recht om deze gegevens in te kijken en om verbeteringen te laten aanbrengen indien ze foutief zouden zijn ¹.

De arts-onderzoeker is verplicht om deze verzamelde gegevens vertrouwelijk te behandelen.

Dit betekent dat hij/zij zich ertoe verbindt om uw naam nooit bekend te maken bv in het kader van een publicatie of een conferentie en dat hij/zij uw gegevens zal coderen (uw identiteit zal worden vervangen door een identificatiecode in de studie) voordat hij/zij ze doorgeeft aan de beheerder van de databank.

De arts-onderzoeker en zijn team zullen gedurende de volledige klinische studie de enige personen zijn die een verband kunnen leggen tussen de overgedragen gegevens en uw medisch dossier ².

De overgedragen persoonlijke gegevens omvatten geen combinatie van elementen waarmee het mogelijk is u te identificeren ³.

¹ Deze rechten zijn bepaald door de wet van 8 december 1992 tot bescherming van de persoonlijke levenssfeer ten opzichte van de verwerking van persoonsgegevens en door de wet van 22 augustus 2002 betreffende de rechten van de patiënt.

² Voor klinische studies verplicht de wet om het verband met uw dossier gedurende 20 jaar te behouden. In geval van een studiegeneesmiddel voor een innoverende therapie waarbij gebruik wordt gemaakt van menselijk lichaamsmateriaal, bedraagt deze periode minimaal 30 jaar en maximaal 50 jaar in overeenstemming met de Belgische wet van 19 december 2008 inzake het gebruik van menselijk lichaamsmateriaal en de geldende Koninklijke Besluiten..

³ De gegevensbank met onderzoeksresultaten bevat dus geen verband met elementen zoals uw initialen, uw geslacht en uw volledige geboortedatum (dd/mm/jjjj).

Om de kwaliteit van de studie te controleren, kan uw medisch dossier worden ingekeken door personen die gebonden zijn aan het beroepsgeheim zoals vertegenwoordigers van de ethische comités, van de opdrachtgever van de studie of een extern auditbureau. Dit kan enkel gebeuren onder strikte voorwaarden, onder de verantwoordelijkheid van de arts-onderzoeker en onder zijn/haar toezicht (of van één van zijn/haar onderzoeksmedewerkers).

De (gecodeerde) onderzoeksgegevens kunnen doorgegeven worden aan Belgische of andere regelgevende instanties, aan de betrokken ethische comités, aan andere artsen en/of instellingen die samenwerken met de opdrachtgever.

Ze kunnen ook doorgegeven worden aan andere sites van de opdrachtgever in België en in andere landen waar de normen inzake de bescherming van persoonsgegevens verschillend of minder strikt kunnen zijn⁴.

Dit gebeurt dan steeds in gecodeerde vorm zoals hierboven uitgelegd.

Uw toestemming om aan deze studie deel te nemen betekent dus ook dat u akkoord gaat dat uw gecodeerde medische gegevens gebruikt worden voor doeleinden die in dit informatieformulier beschreven staan en dat ze overgedragen worden aan bovenvermelde personen en/of instellingen.

De opdrachtgever zal de verzamelde gegevens gebruiken in het kader van de studie waaraan u deelneemt.

Indien u uw toestemming tot deelname aan de studie intrekt, zullen de gecodeerde gegevens die al verzameld waren vóór uw terugtrekking, bewaard worden. Hierdoor wordt de geldigheid van de studie gegarandeerd. Er zal geen enkel nieuw gegeven aan de opdrachtgever worden doorgegeven.

Verzekering

Elke deelname aan een studie houdt een risico in, hoe klein ook. De opdrachtgever is - ook indien er geen sprake is van fout - aansprakelijk voor de schade die de deelnemer of in geval van overlijden zijn/haar rechthebbenden, oplopen en die rechtstreeks of onrechtstreeks verband houdt met diens deelname aan de studie. U moet hiervoor dus geen fout aantonen. De opdrachtgever heeft voor deze aansprakelijkheid een verzekering afgesloten⁵.

Gegevens verzekeringsmaatschappij:

Ethias NV

Prins-Bisschopsingel 73

3500 Hasselt

Polisnummer: 45.197.38

⁴ De opdrachtgever verbindt er zich toe om de voorwaarden in de Europese Richtlijnen en de Belgische Wetgeving betreffende de bescherming van de persoonlijke levenssfeer te eerbiedigen.

⁵ In overeenstemming met artikel 29 van de Belgische Wet inzake experimenten op de menselijke persoon (7 mei 2004)

We verzoeken u daarom om elk nieuw gezondheidsprobleem aan de arts-onderzoeker te melden. Hij/Zij kan u aanvullende informatie verstrekken over mogelijke behandelingen.

Indien de arts-onderzoeker van mening is dat er een verband met de studie mogelijk is zal hij/zij de opdrachtgever van de studie op de hoogte stellen die de aangifteprocedure bij de verzekering zal starten. Deze zal, indien zij het nodig acht, een expert aanstellen om een oordeel uit te spreken over het verband tussen uw nieuwe gezondheidsklachten en de studie.

In het geval van onenigheid met de arts-onderzoeker of met de door de verzekeringsmaatschappij aangestelde expert, en steeds wanneer u dit nodig acht, kunnen u of in geval van overlijden uw rechthebbenden de verzekeraar rechtstreeks in België dagvaarden (naam verzekering, polisnummer, contactgegevens).

De wet voorziet dat de dagvaarding van de verzekeraar kan gebeuren ofwel voor de rechter van de plaats waar de schadeverwekkende feiten zich hebben voorgedaan, ofwel voor de rechter van uw woonplaats, ofwel voor de rechter van de zetel van de verzekeraar.

Indien u moeilijkheden ondervindt met vervoer van en naar de UHasselt Campus te Diepenbeek en/of het Jessa ziekenhuis te Hasselt is het mogelijk dat de onderzoeker vervoer voor u regelt of u komt ophalen. U weet dat uw transport met de wagen van de onderzoeker, met de onderzoeker als bestuurder van de wagen, naar de UHasselt Campus te Diepenbeek en/of het Jessa Ziekenhuis te Hasselt op eigen risico is. De UHasselt is niet aansprakelijk bij een ongeluk of incident.

Titel van de studie: Orale beta-alanine suppletie in patiënten met COPD : structurele, metabole en functionele adaptaties.
--

III Geïnformeerde toestemming

Deelnemer

Ik verklaar dat ik geïnformeerd ben over de aard, het doel, de duur, de eventuele voordelen en risico's van de studie en dat ik weet wat van mij wordt verwacht. Ik heb kennis genomen van het informatiedocument en de bijlagen ervan.

Ik heb voldoende tijd gehad om na te denken en met een door mij gekozen persoon, zoals mijn huisarts of een familielid, te praten.

Ik heb alle vragen kunnen stellen die bij me opkwamen en ik heb een duidelijk antwoord gekregen op mijn vragen.

Ik begrijp dat mijn deelname aan deze studie vrijwillig is en dat ik vrij ben mijn deelname aan deze studie stop te zetten zonder dat dit mijn relatie schaadt met het therapeutisch team dat instaat voor mijn gezondheid.

Ik begrijp dat er tijdens mijn deelname aan deze studie gegevens over mij zullen worden verzameld en dat de arts-onderzoeker en de opdrachtgever de vertrouwelijkheid van deze gegevens verzekeren overeenkomstig de Belgische wetgeving ter zake.

Ik stem in met de verwerking van mijn persoonlijke gegevens volgens de modaliteiten die zijn beschreven in de rubriek over het verzekeren van de vertrouwelijkheid (bijlage 3). Ik geef ook toestemming voor de overdracht naar en verwerking van mijn gecodeerde gegevens in andere landen dan België.

Ik ga ermee akkoord dat de studiegegevens die voor de hier vermelde studie worden verzameld, in een later stadium opnieuw worden gebruikt, op voorwaarde dat dit gebruik beperkt blijft tot de context van de hier vermelde studie voor een betere kennis van de ziekte en de behandeling ervan.

Ik ga ermee akkoord dat het overblijvend lichaamsmateriaal en bijhorende gegevens gedurende 50 jaar bewaard worden in de biobank (UBiLim) voor toekomstig onderzoek zonder dat hiervoor opnieuw mijn toestemming wordt gevraagd, mits dit onderzoek door de juiste instanties goedgekeurd werd.

Ik heb een exemplaar ontvangen van de informatie aan de deelnemer en de geïnformeerde toestemming.

Naam, voornaam, datum en handtekening van de deelnemer

Onderzoeker

Ik ondergetekende Prof Martijn Spruit, onderzoeker, of zijn vertegenwoordiger, verklaar de benodigde informatie inzake deze studie mondeling te hebben verstrekt evenals een exemplaar van het informatiedocument aan de deelnemer te hebben verstrekt.

Ik bevestig dat geen enkele druk op de deelnemer is uitgeoefend om hem/haar te doen toestemmen tot deelname aan de studie en ik ben bereid om op alle eventuele bijkomende vragen te antwoorden.

Ik bevestig dat ik werk in overeenstemming met de ethische beginselen zoals vermeld in de laatste versie van de "Verklaring van Helsinki", de "Goede klinische praktijk" en de Belgische wet van 7 mei 2004 inzake experimenten op de menselijke persoon.

Martijn Spruit, 4/01/2016

A handwritten signature in blue ink, reading 'MASpruit', with a stylized flourish at the end.

Naam, voornaam, datum en handtekening
van de onderzoeker of zijn vertegenwoordiger

Document 2

Approval of the medical ethics committee

CORRESPONDENTIEADRES

Campus Virga Jesse
Stadsomvaart 11
3500 Hasselt



Ethische Toetsingscommissie

ADVIESFORMULIER

- ☒ studieprotocol
- ☐ amendement protocol
- ☐ medical need program

VOORZITTER
dr. Koen Magerman

SECRETARIAAT
Katrien Jaegers
katrien.jaegers@jessazh.be

CONTACT
ethische.toetsingscommissie@jessazh.be

ONS KENMERK
16.25/CARDIO16.06

Hasselt, 23 maart 2016

Titel protocol: **Orale beta-alanine supplementatie in patiënten met COPD: structurele, metabole en functionele adaptaties - BACOPD**

Protocolnummer:
Belgisch registratie#: B243201628086
Onderzoeker Jessa: Dr. P. Dendale
Jana De Brandt

DEFINITIEVE GOEDKEURING ETHISCHE TOETSINGSCOMMISSIE JESSA

Geachte collega,

In haar vergadering van 16/02/2016 maakte de Ethische Toetsingscommissie opmerkingen in verband met het ingediende studiedossier.
Hierbij bevestigen wij dat we uw **aangepaste** studietoetsing aanvraag ontvingen:

- ☒ protocol, versie 2, 16/03/2016
- ☒ informatie- en toestemmingsformulier, versie maart 2016
- ☒ informatie- en toestemmingsformulier, gezonde controles, versie maart 2016

De gewijzigde documenten voldoen aan de gestelde opmerkingen en zullen aan het studiedossier toegevoegd worden.
De Ethische Toetsingscommissie geeft hierbij haar **definitieve goedkeuring** voor de start van het onderzoek.

De Ethische Toetsingscommissie is georganiseerd en handelt volgens de richtlijnen van GCP/ICH.

In bijlage vindt u de ledenlijst van de Ethische Toetsingscommissie.

Met vriendelijke groeten,

Adviesformulier studie 16.25/cardio16.06

De vzw Jessa Ziekenhuis is een fusie tussen het
Virga Jesseziekenhuis en het Salvator-St.-Ursulaziekenhuis

Maatschappelijke zetel:
Salvatorstraat 20, 3500 Hasselt

Ter goedkeuring,


Dr. Koen Magerman
Voorzitter Ethische Toetsingscommissie
Jessa Ziekenhuis

23 maart 2016

Ledenlijst Ethische Toetsingscommissie 2016

Dr. Koen Magerman, voorzitter – klinisch bioloog
Dr. Johan Vanwalleghem, ondervoorzitter – nefroloog
Dr. Brigitte Maes, secretaris – klinisch biologe
Mevr. Mieke Bieghs – apotheek
Dr. Marcel De Ruyter – klinisch bioloog
Mevr. Katrien Jaemers – management assistant
Dhr. Pros Vanhelmont – jurist
Dr. Herman Kupperts – huisarts
Dr. Bjorn Stessel – anesthesist
Mevr. Nathalie Cardinaels – psychologe
Mevr. Fabienne Mertens – hoofdverpleegkundige
Dr. Ruth Achten – anatoom-patholoog en master in biostatistiek
Dr. Pascal Vranckx – cardioloog
Mevr. Petra De Smet – ethicus, master in de filosofie en geloofswetenschappen

Adviesformulier studie 16.25/cardio16.06

De vzw Jessa Ziekenhuis is een fusie tussen het
Virga Jesseziekenhuis en het Salvator-St.-Ursulaziekenhuis

Maatschappelijke zetel:
Salvatorstraat 20, 3500 Hasselt

2/2

Document 3

Copyright agreement

Ik/wij verlenen het wereldwijde auteursrecht voor de ingediende eindverhandeling: **Muscle carnosine concentrations in m. vastus lateralis in patients with COPD.**

Richting: **Master in de revalidatiewetenschappen en de kinesitherapie**

Jaar: **2018**

In alle mogelijke mediaformaten, - bestaande en in de toekomst te ontwikkelen - , aan de Universiteit Hasselt.

Niet tegenstaand deze toekenning van het auteursrecht aan de Universiteit Hasselt behoud ik als auteur het recht om de eindverhandeling, - in zijn geheel of gedeeltelijk -, vrij te reproduceren, (her)publiceren of distribueren zonder de toelating te moeten verkrijgen van de Universiteit Hasselt.

Ik bevestig dat de eindverhandeling mijn origineel werk is, en dat ik het recht heb om de rechten te verlenen die in deze overeenkomst worden beschreven. Ik verklaar tevens dat de eindverhandeling, naar mijn weten, het auteursrecht van anderen niet overtreedt.

Ik verklaar tevens dat ik voor het materiaal in de eindverhandeling dat beschermd wordt door het auteursrecht, de nodige toelatingen heb verkregen zodat ik deze ook aan de Universiteit Hasselt kan overdragen en dat dit duidelijk in de tekst en inhoud van de eindverhandeling werd genotificeerd.

Universiteit Hasselt zal mij als auteur(s) van de eindverhandeling identificeren en zal geen wijzigingen aanbrengen aan de eindverhandeling, uitgezonderd deze toegelaten door deze overeenkomst.

Voor akkoord,

Verwimp, Eline

Grauwels, Willem

Datum: **27/06/2018**

Document 4

Progress form

www.uhasselt.be Campus Hasselt Martelarenlaan 42 BE-3500 Hasselt Campus Diepenbeek Agoralaan gebouw D BE-3590 Diepenbeek T + 32(0)11 26 81 11 E-mail: info@uhasselt.be	▶▶ UHASSELT KNOWLEDGE IN ACTION
--	--

VOORTGANGSFOMULIER WETENSCHAPPELIJKE STAGE DEEL 2

DATUM	INHOUD OVERLEG	HANDTEKENINGEN
26/02	Algemene bespreking masterproef deel 2: - Titel masterproef deel 2? - Wat kan behouden blijven van masterproef deel 1? - Afspreken deadlines.	Promotor: <i>M. Spruij</i> Copromotor: <i>[Signature]</i> Student: <i>[Signature]</i> Studente: <i>Verwimp</i>
27/04	Bespreking vordering thesis: - Resultaten- en discussiesectie - Figuren bespreken	Promotor: <i>M. Spruij</i> Copromotor: <i>[Signature]</i> Student: <i>[Signature]</i> Studente: <i>Verwimp</i>
		Promotor: Copromotor: Student(e): Student(e):
		Promotor: Copromotor: Student(e): Student(e):
		Promotor: Copromotor: Student(e): Student(e):
		Promotor: Copromotor: Student(e): Student(e):
		Promotor: Copromotor: Student(e): Student(e):

Auteursrechtelijke overeenkomst

Ik/wij verlenen het wereldwijde auteursrecht voor de ingediende eindverhandeling:
Muscle carnosine concentrations in m. vastus lateralis in patients with COPD

Richting: **master in de revalidatiewetenschappen en de kinesitherapie-revalidatiewetenschappen en kinesitherapie bij inwendige aandoeningen**

Jaar: **2018**

in alle mogelijke mediaformaten, - bestaande en in de toekomst te ontwikkelen - , aan de Universiteit Hasselt.

Niet tegenstaand deze toekenning van het auteursrecht aan de Universiteit Hasselt behoud ik als auteur het recht om de eindverhandeling, - in zijn geheel of gedeeltelijk -, vrij te reproduceren, (her)publiceren of distribueren zonder de toelating te moeten verkrijgen van de Universiteit Hasselt.

Ik bevestig dat de eindverhandeling mijn origineel werk is, en dat ik het recht heb om de rechten te verlenen die in deze overeenkomst worden beschreven. Ik verklaar tevens dat de eindverhandeling, naar mijn weten, het auteursrecht van anderen niet overtreedt.

Ik verklaar tevens dat ik voor het materiaal in de eindverhandeling dat beschermd wordt door het auteursrecht, de nodige toelatingen heb verkregen zodat ik deze ook aan de Universiteit Hasselt kan overdragen en dat dit duidelijk in de tekst en inhoud van de eindverhandeling werd genotificeerd.

Universiteit Hasselt zal mij als auteur(s) van de eindverhandeling identificeren en zal geen wijzigingen aanbrengen aan de eindverhandeling, uitgezonderd deze toegelaten door deze overeenkomst.

Voor akkoord,

Grauwels, Willem

Verwimp, Eline

Datum: **5/06/2018**