



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



Dist. Nº 0071/15



**COMISIÓN HONORARIA DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL
(C.H.E.A.)**

**FORMULARIO PARA EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS DE
EXPERIMENTACIÓN Y DOCENCIA CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

I.- INFORMACIÓN PRELIMINAR

1.- Institución:

Nombre

Departamento

Laboratorio

Director del Departamento, Cátedra o Laboratorio:

Nombre	Teléfono	Correo Electrónico
Dr. Juan Cedano	47334816	jcedano@unorte.edu.uy

2.- Título del Protocolo:

Inducción de tumores diseminados en ratones *Balb/c* e inoculación de proteínas desarrolladas por bioingeniería para levantar la tolerancia inmunitaria de los tumores.

3.- Responsable del Protocolo experimental:

Nombre	Teléfono	Correo Electrónico	Nivel de Acreditación
Gabriela Ferragut	47334816	gferragu@fq.edu.uy	C2

4.- Uso propuesto de los animales:

Docencia

Investigación Si

Otros

Explique (nombre del curso, título del proyecto en el cual se desarrollará, etc.):

Abordaje biotecnológico para la inhibición de la respuesta de tolerancia tumoral en ratones, como estrategia terapéutica direccional y de baja toxicidad en enfermedad tumoral diseminada.

5.- Fuente de financiamiento solicitada y duración:

Proyecto puesto a consideración de la ANII, convocatoria: Fondo María Viña; fecha de cierre 20/11/2014.

6.- Laboratorio / Bioterio/ Centro experimental donde se llevará a cabo el protocolo:

El protocolo se realizará en el Laboratorio de Inmunología

II.- INFORMACIÓN ESPECÍFICA DEL PROTOCOLO

1.-Indique brevemente de qué manera este proyecto es relevante para la salud humana o animal, o para el avance del conocimiento o del bienestar de la sociedad.

En este proyecto se propone el uso de nuevas herramientas biotecnológicas dirigidas a la reducción de la agresividad de los tratamientos oncológicos sin comprometer su eficacia terapéutica.

En el proyecto se van a usar técnicas y procedimientos bien establecidos, pero combinándolos de forma innovadora, para crear un nuevo abordaje en la inmunoterapia contra el cáncer. Para ello se utilizarán herramientas biotecnológicas para aumentar la especificidad de la inducción de la respuesta inmunológica contra tumores, por medio de la reducción de tolerancia inmunológica, y a la vez, gracias a esta focalización se pretende reducir los efectos secundarios del tratamiento.

2.-Complete el siguiente cuadro acerca del modelo experimental a usar:

2.a. Modelo *in vivo*: Si

Especie	<i>Mus musculus</i>
Raza/ Cepa	<i>Balb/c</i>
Sexo	Hembras.
Edad	6-8 semanas
Peso	24-26 g*

2.b. Modelo *in vitro*:

Cultivo Celular Primario (especifique)	
Organo Aislado (especifique)	
Otros	

3.a. Justifique el uso de la(s) especie(s) seleccionada(s) y número a utilizar.

Se utilizarán 24 ratones hembras *Balb/c* de 6-8 semanas a los que se les inoculará 2×10^6 células A20 de forma subcutánea en el flanco derecho el día 0. Se distribuirán en 4 grupos de la siguiente manera:
 n=6 se inoculará solución control (PBS estéril)
 n=6 se inoculará kynureminasa
 n=6 se administrarán Nidógeno 1 + kynureminase
 n=6 se administrará Nidógeno 1 + Kynureminase + G-CSF

La administración de Nidógeno 1, kynureminase y G-CSF se realizará de forma intravenosa por inoculación en vena caudal. Una vez obtenidas las proteínas desarrolladas por bioingeniería se calculará la molaridad y de acuerdo a la misma se establecerá la dosis por células A20 inyectadas.

Se repetirán las inoculaciones 4 veces cada 14 días. Un vez finalizado este protocolo se esperarán 2 semanas y se sacrificarán los animales para analizar los tumores desarrollados. Se realizarán estudios macroscópicos, microscópicos e inmunológicos.

3.b. En caso de que los animales hayan sido utilizados en otro(s) protocolo(s), mencione en cuales (título) y cuando se aprobaron.

Los ratones *Balb/c* han sido utilizados en modelos experimentales de tumores en protocolos aprobados en Facultad de Medicina

3.c. Indique el método estadístico a emplear, si se basa en un modelo ya utilizado, cítelos. En caso de consultar a un estadístico, comuníquelo.

Bioinformático Juan Cedano

3.d. Indique los motivos por los que no se plantea el uso de métodos alternativos al propuesto.

Es el modelo experimental que se utiliza para estudios que permitirán traspolar los resultados para su aplicación en humanos. Estos elementos se testarán en un modelo experimental pre-clínico de LNH-B (linfoma no-Hodgkins de células B), por inoculación de células A20 en ratones *Balb/c*

4. Indique fuentes de información consultadas (para procedimientos del protocolo).

Removal of blood from laboratory mammals and birds: First Report of the BVA/FRAME/RSPC UFAW Joint Working Group on Refinement Lab Anim 1993 27: 1
DOI: 10.1258/002367793781082412

Grille S, Brugnini A, Nese M, Corley E, Falkenberg FW, Lens D, Chabalgoity JA: A B-cell lymphoma vaccine using a depot formulation of interleukin-2 induces potent antitumor immunity despite increased numbers of intratumoral regulatory T cells. *Cancer*

5.a- Marque el tipo de procedimiento experimental que se llevará a cabo con los animales.

Etológico (Comportamental)	
Quirúrgico	
Farmacológico	x
Mutagénico	
Infeccioso	
Nutricional	
Otro (Explique)	Se marcarán en cada grupo los individuos por perforación en orejas Se realizarán extracciones de sangre cada 14 días, mediante punción capilar retroorbital

5.b- Describa en detalle todos los procedimientos con animales y su duración que se realizarán con los animales, indicando si son invasivos o no, crónicos o agudos.

Una vez tengamos las diferentes combinaciones de proteínas a testar se inducirán tumores en ratones hembras Balb/C de 6-8 semanas mediante punción de 2×10^6 células A20 de forma subcutáneas en el flanco derecho. Habrá 4 grupos de ratones, 6 ratones por grupo, 24 en total. El día 0 se inyectarán los tumores y a cada uno de los grupos su solución:

1. control,
2. kynureninase,
3. (Nidogeno-1+kynureninase),
4. y (Nidogeno1+kynureninase+G-CSF)

Cada 14 días, en un total de 4 rondas se les volverá a inyectar estas mismas soluciones de proteínas. Se sangrarán cada 14 días los ratones de los diferentes grupos por punción capilar retroorbital aplicando anestésico.

Y a los 14 días de la última inyección se sacrificarán, para hacer un estudio macroscópico, citológico

e inmunológico.

6.- Especifique en cuál de estas situaciones se ubica el procedimiento utilizado:

Manejo indoloro del animal	No
Manejo del animal con un estrés moderado	Extracción de sangre
Manejo del animal con alto nivel de estrés	No
Tratamiento crónico o agudo en condiciones de estrés	No

7.a.- Indique en qué etapas o manipulaciones se prevé que el animal pueda experimentar dolor, sufrimiento o ansiedad. ¿Cómo y quién lo supervisará y qué medidas están previstas para evitarlo?

Pueden experimentar dolor en el sangrado por lo cual se aplicará anestesia (isofluorano)

7.b.- Indique si se utilizará analgésico, anestésico o tranquilizante para minimizar el dolor.

	Analgésico	Anestésico	Tranquilizante
Principio Activo		isofluorano	
Dosis			
Vía de administración			
Frecuencia de administración			
Duración del tratamiento		Cada 14 días	
Responsable de la administración		Gabriela Ferragut	

7.c.- Especifique la razón en el caso que no se planifiquen tales tratamientos

8.- Finalización del Protocolo de Experimentación y/o Docencia

8.a.- Está previsto mantener a los animales con vida. Explique razones.

No.

8.b.- Está previsto sacrificarlos, explique razones. En este caso indique qué método de eutanasia utilizará y quién realizará el procedimiento.

Si, parte del protocolo es sacrificarlos para analizar los tumores desarrollados. Se aplicará CO2 y el procedimiento lo realizará el responsable del protocolo.

8.c.-Indique como eliminará los residuos biológicos producidos durante este protocolo.

Según normas vigentes para eliminación de residuos biológicos, se gestionará en la sede.

III.- PERSONAL Y EQUIPAMIENTO

1.- Personal que participará en el protocolo

Nombre	Nivel de acreditación	Cargo a ocupar	Actividad que llevará a cabo
Gabriela Ferragut	C2	responsable	Protocolo experimental con ratones. Inoculaciones, sangrados
Juan Cedano		Responsable proyecto	Análisis de tumores desarrollados

2.- Personal que atenderá los animales

Personal a cargo del mantenimiento, cuidado, reproducción y bienestar de los animales (se exige por lo menos un responsable acreditado por la C.H.E.A).

Nombre y apellido:

Posición laboral:

3.- Indique los elementos de protección personal que se utilizarán durante todo el protocolo (ej. guantes, mascarillas, gafas, viseras, protectores auditivos, tapabocas, mamelucos, túnicas, zapatos, cubrezapatos, gorros, etc).

4.- Indique si en el marco del procedimiento experimental, se utilizarán algunos de los siguientes dispositivos:

Campana de Gases	Si
Cabina de Seguridad Biológica (especifique Nivel)	Si Tipo II
Cabina de Flujo Laminar (especifique Nivel)	No

5-Instalaciones y equipamiento

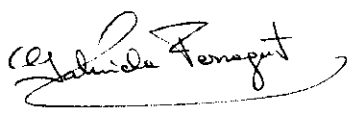
5.a- Indique la fuente o el proveedor de los animales (nombre y local de cría) y en qué local se mantendrán los mismos durante el protocolo (Institución, Servicio, Laboratorio, etc.). Así mismo el equipamiento con que cuenta el local para mantener los animales.

5.b- Desglose de gastos y origen de fondos.

Insumo	Total a gastar	Origen de los fondos
Compra Animales, inquilinato, etc	\$ 2400	ANII
Material de laboratorio (guantes, tapabocas, jeringas etc)	\$ 600000	ANII

Reactivos (anestésicos, analgésicos, etc.)	\$ 2500	ANII
Otros (gastos traslado)	\$ 3000	ANII

IV -DECLARO QUE LA INFORMACIÓN APORTADA ES VERAZ Y CIERTA,

Nombre del Responsable del Protocolo	Gabriela Ferragut
Firma	
Fecha	20 de noviembre de 2014

ESTE PROTOCOLO TIENE VALIDEZ POR CINCO AÑOS LUEGO DE LA APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA.

Modificaciones realizadas luego de su aprobación, como ser un cambio en los operarios, el número de animales a usar, anestésicos, etc. Se deberán comunicar y pedir aprobación al Comité mediante una carta explicativa.

Cualquier cambio en el procedimiento amerita presentar un nuevo protocolo al Comité de ética del servicio.

¿Autoriza a que el protocolo sea publicado en la página web de la CHEA?

SI

NO

V.- REVISIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INSTITUCIÓN

La presente solicitud:

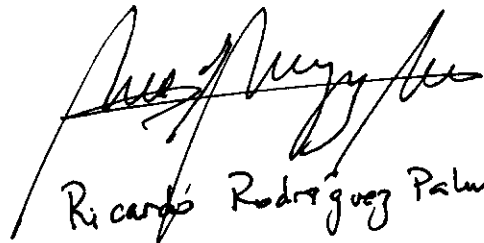
Fue aprobada en su versión original	<input checked="" type="checkbox"/>
Fue aprobada en una versión modificada	<input type="checkbox"/>
Es necesaria mayor información / estudio.	<input type="checkbox"/>
No fue aprobada	<input type="checkbox"/>

Comentarios del Comité de Ética

Protocolo aprobada


Miembros del Comité de Ética

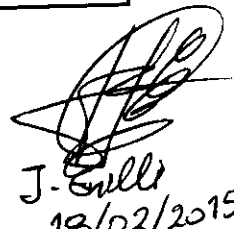
Firma


Ricardo Rodríguez Palma

Fecha

18/02/2015


J. Enlli
18/02/2015


Jully Marina Anduj
18/02/2015