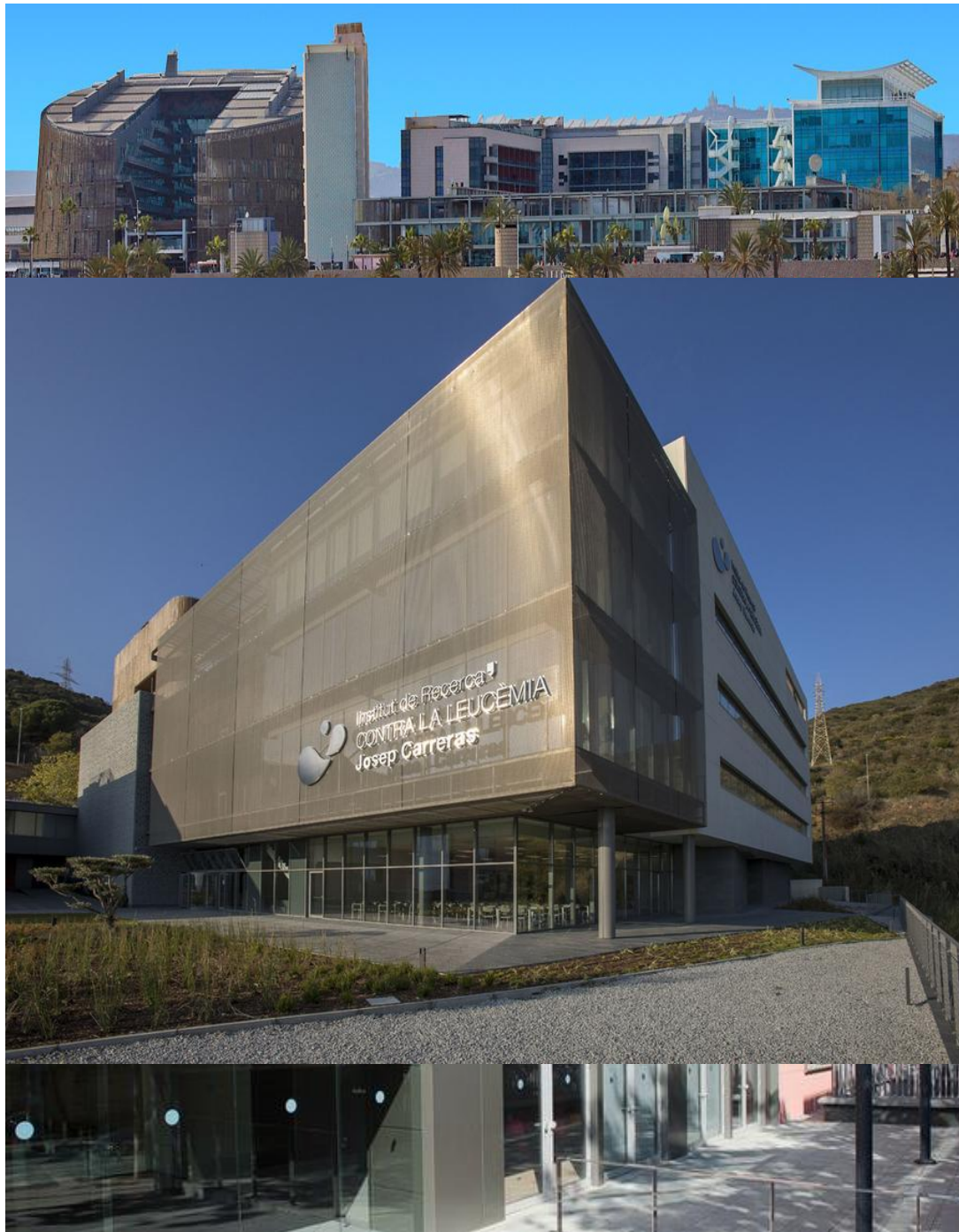


Seminari Permanent de Ciències Naturals

**Models per estudiar la heterogeneïtat tumoral: per què el meu càncer
no és igual que el teu?**

21 d'Octubre de 2022

Em presento



- ❑ 2005 **Llicenciatura en Biologia**
Universitat Pompeu Fabra (UPF)
- ❑ 2011 **Doctorat en Biomedicina**
IMIM-Hospital del Mar, Barcelona
- ❑ 2011-2015 **Postdoc en Biologia del desenvolupament**
Institut Curie, Paris
- ❑ 2015-2020 **Postdoc en Recerca translacional**
Vall d'Hebron Institut d'Oncologia (VHIO),
Barcelona
- ❑ 2020 **Contracte Ramon y Cajal**
Investigadora independent. IJC, Badalona

L'equipàs

Grup Heterogeneïtat i jerarquies del càncer



DAVID Olivares

Gestor del laboratori

Mòdul superior de Tècnic de laboratori clínic i biomèdic

ELENA Vinuesa

Estudiant de doctorat

Grau en Biotecnologia

JOAN Balibrea

Estudiant de doctorat

Grau en Biotecnologia

DANIEL Ortega

Estudiant de màster

Grau en Biotecnologia

CRISTINA Guardia

Investigadora postdoctoral

Llicenciatura en Biologia

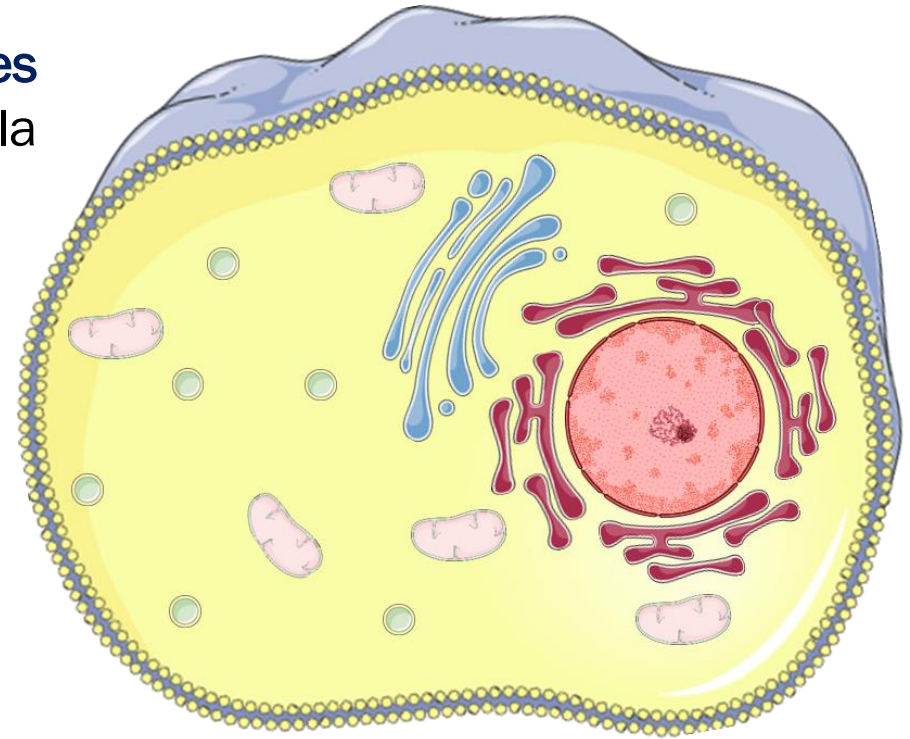
Nosaltres investiguem sobre el càncer

❑ Què és el càncer?

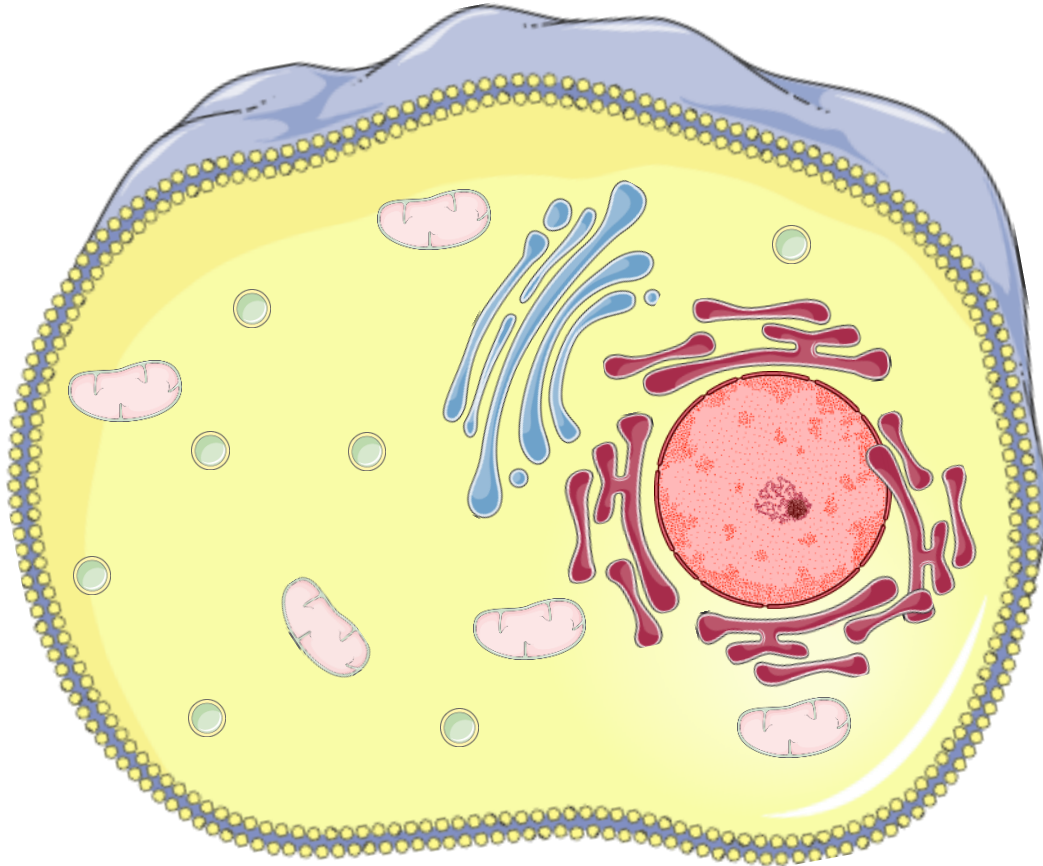
El **càncer** és el nom que rep el **conjunt de malalties** en les que s'observa un procés **descontrolat** en la divisió de les **cèl·lules** del cos.

❑ Què és una cèl·lula?

La **cèl·lula** és la **unitat funcional** de tot ésser viu, és l'element més petit que pot considerar-se viu.



La cèl·lula

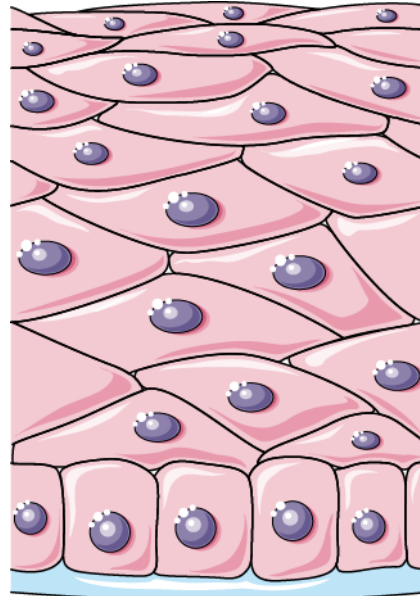


- ☐ Membrana cel·lular
- ☐ Orgànuls:
 - ☐ Vacuoles
 - ☐ Mitocòndries
 - ☐ Aparell de Golgi
 - ☐ Reticle endoplasmàtic
 - ☐ ...
- ☐ Nucli
 - ☐ ADN

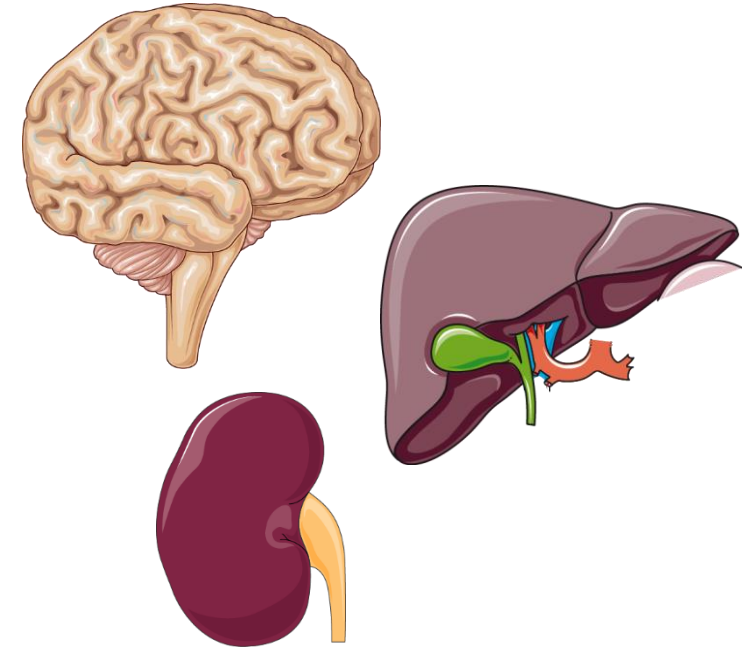
Com s'organitzen les cèl·lules?



Cèl·lula



Teixit



Òrgans

Parlem del càncer

❑ Què diferencia a una cèl·lula tumoral?



Cèl·lula sana

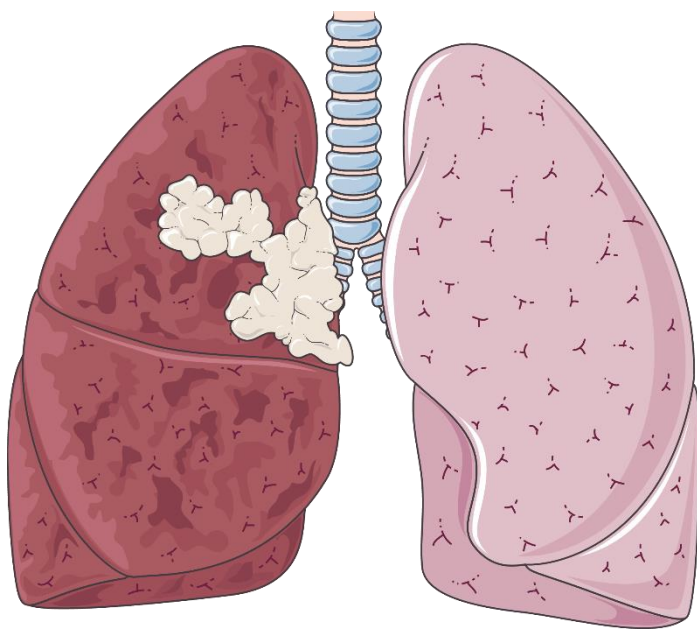


Cèl·lula tumoral

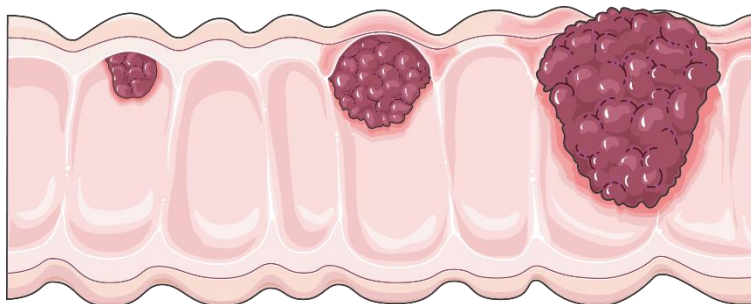
- ❑ Es divideix sense control
- ❑ Ignora les senyals de “suïcidi cel·lular” o mort programada (apoptosis)

Parlem del càncer

❑ Quants tipus de càncer existeixen?



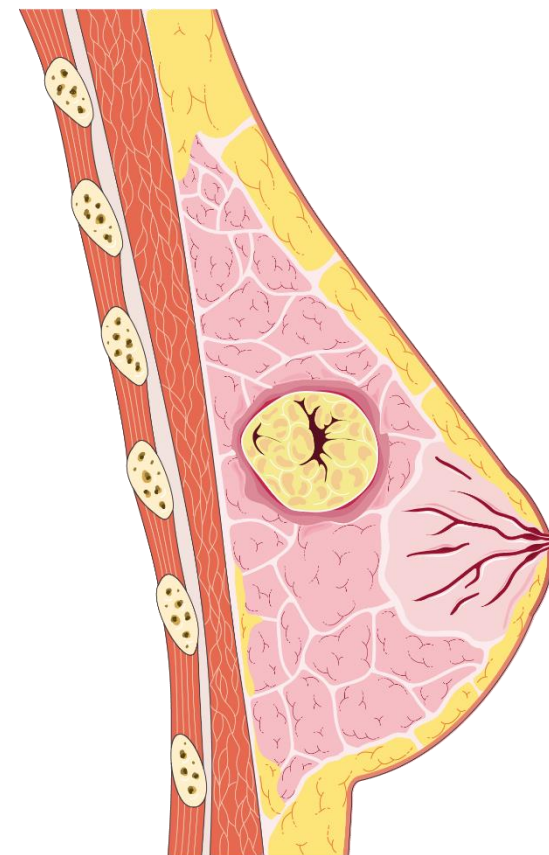
Càncer de pulmó



Càncer de colon



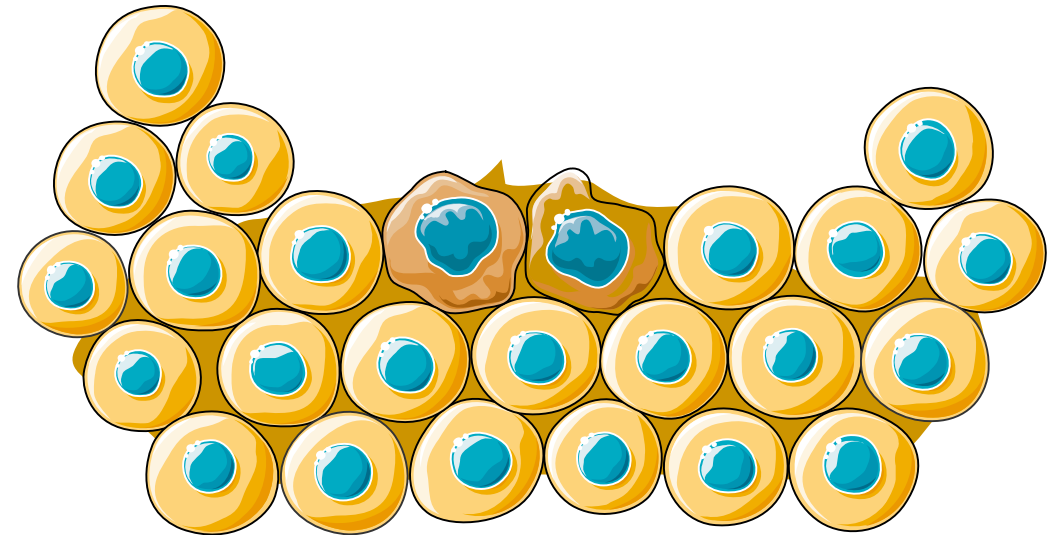
Càncer de pell



Càncer de mama

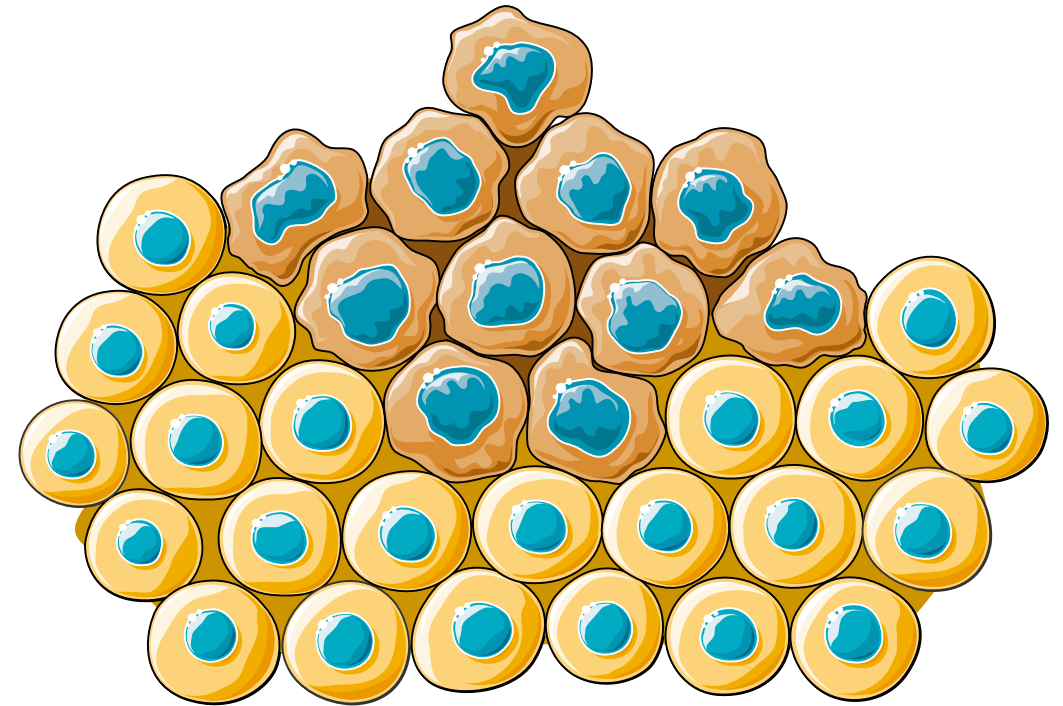
Progressió tumoral

- ☐ Com creix un tumor?
- ☐ Com s'alimenta un tumor?
- ☐ Es pot moure? Com?



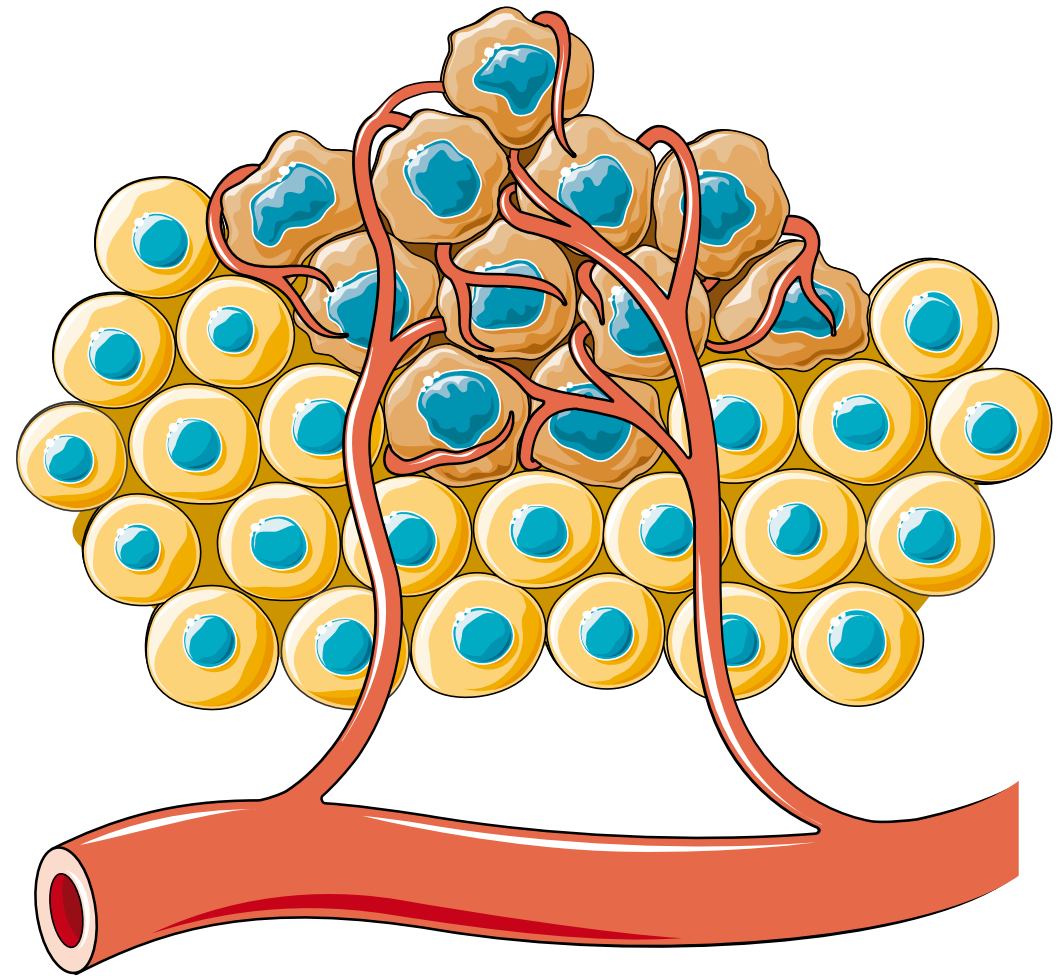
Progressió tumoral

- ☐ Com creix un tumor?
Divisió descontrolada
- ☐ Com s'alimenta un tumor?
- ☐ Es pot moure? Com?



Progressió tumoral

- ❑ Com creix un tumor?
- ❑ Com s'alimenta un tumor?
Creant vasos (angiogènesi)
- ❑ Es pot moure? Com?



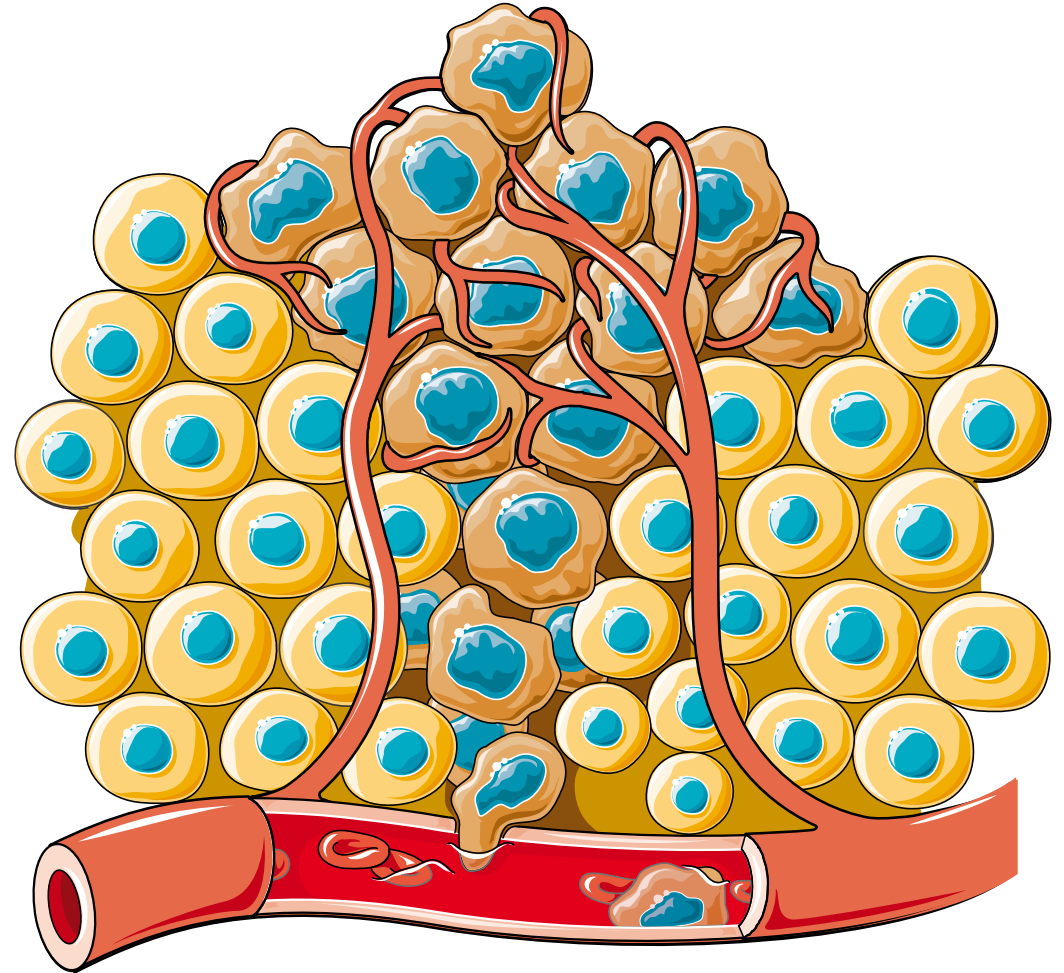
Progressió tumoral

☐ Com creix un tumor?

☐ Com s'alimenta un tumor?

☐ Es pot moure? Com?

Sí, travessant la paret dels vasos sanguinis i colonitzant nous teixits (metàstasi)

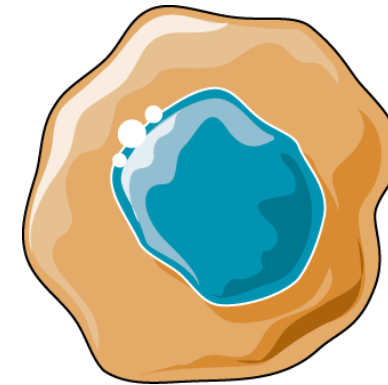
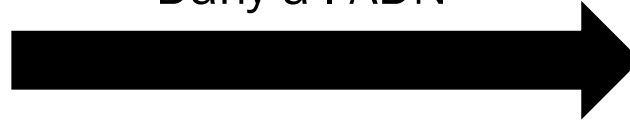


Com es transforma una cèl·lula en tumoral?



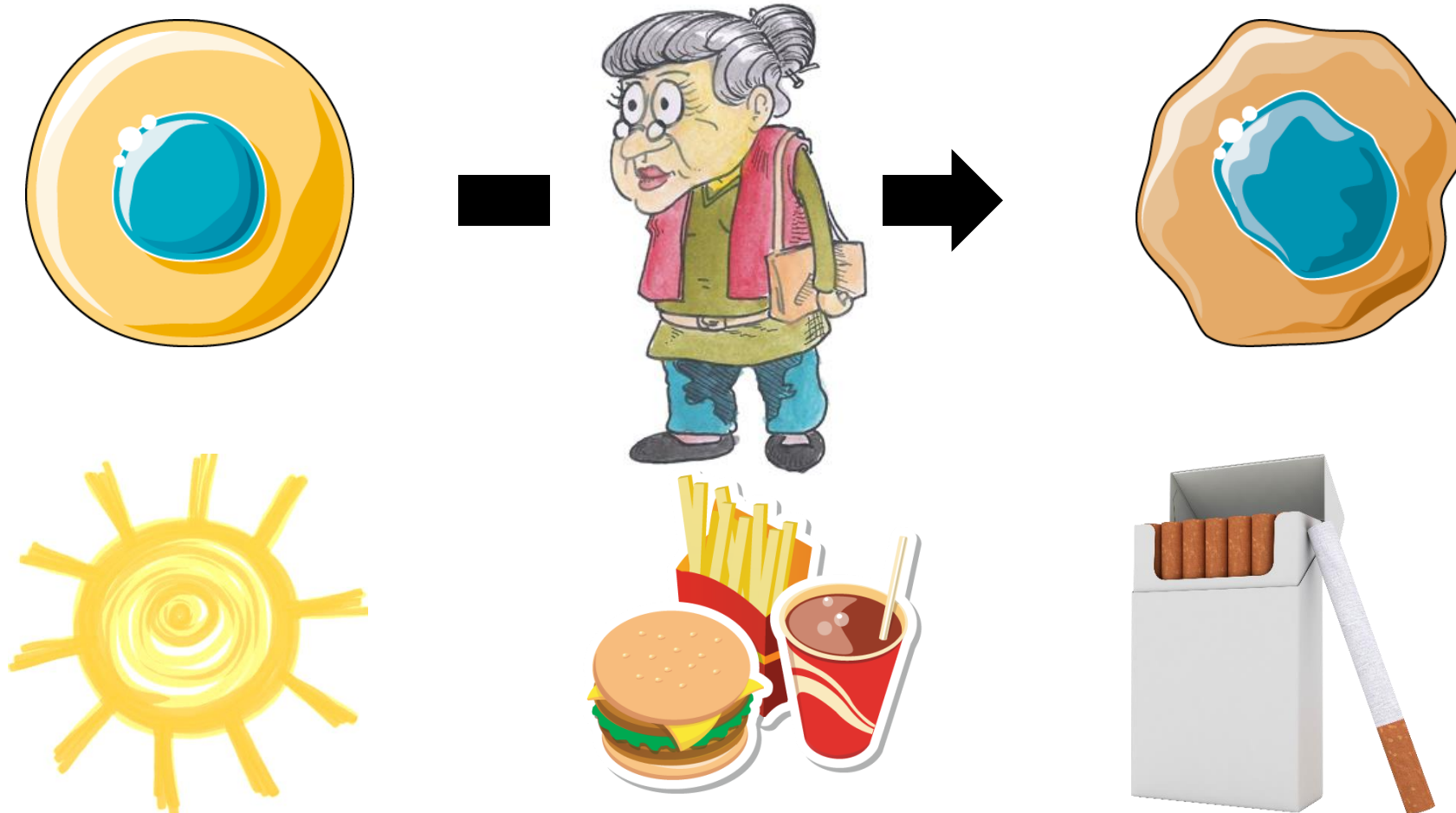
Cèl·lula sana

Dany a l'ADN

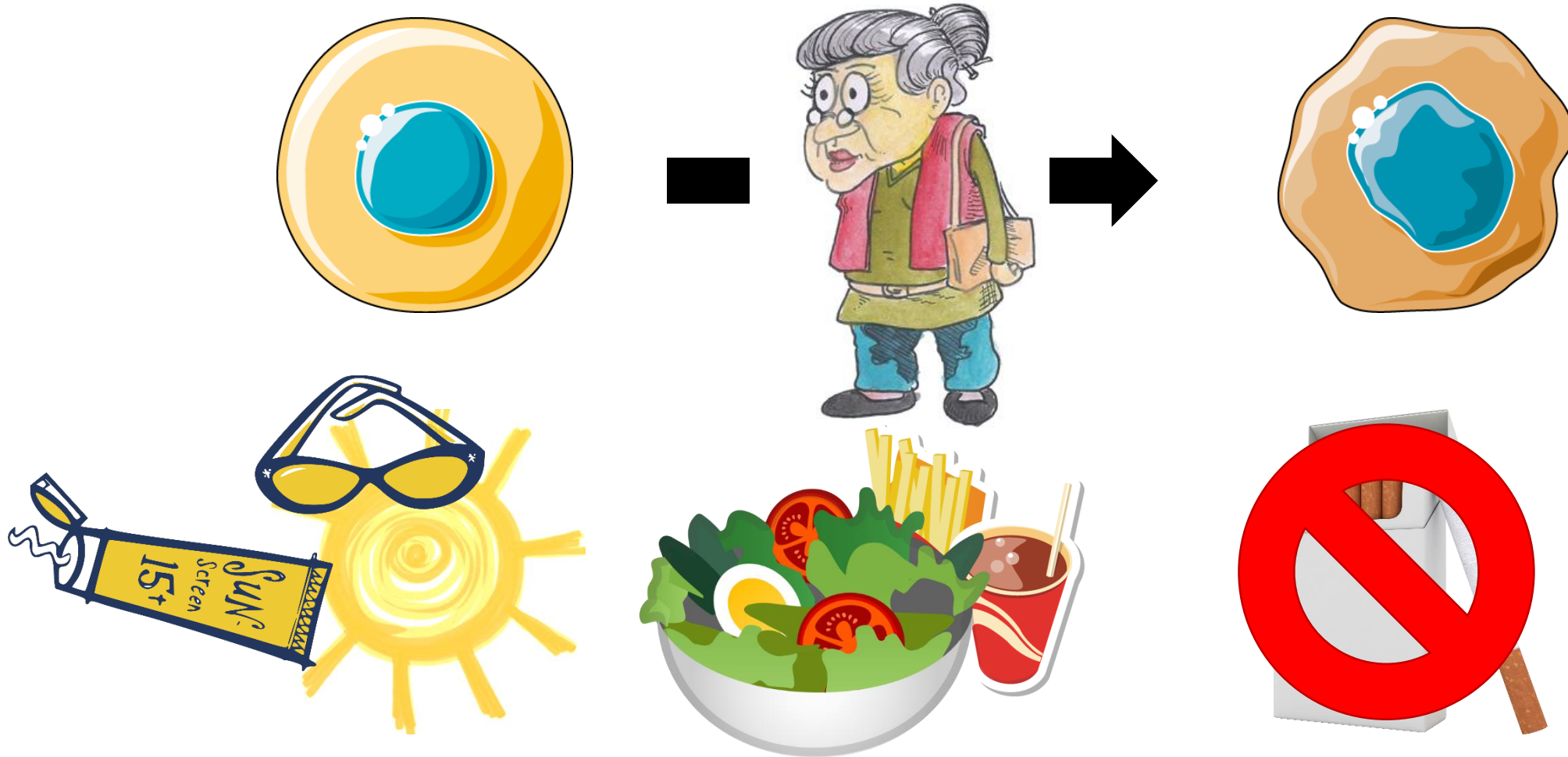


Cèl·lula tumoral

Podem evitar-lo?



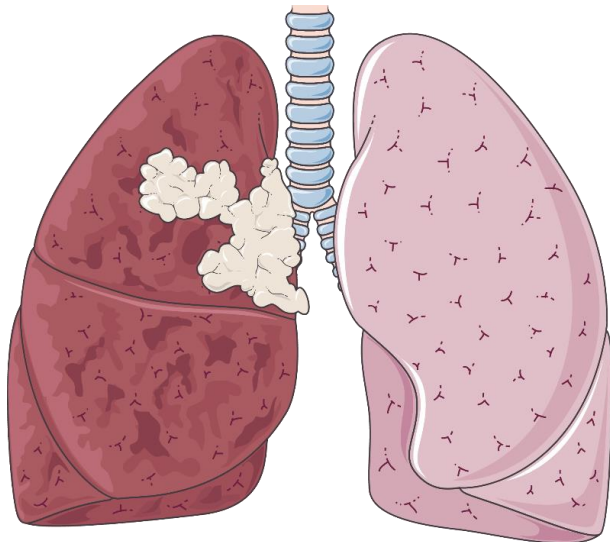
Podem evitar-lo?



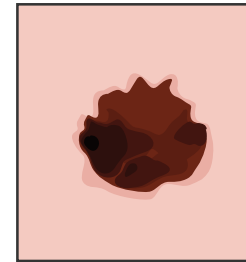
El càncer

El **càncer** és un tipus de malaltia en què un grup de cèl·lules desenvolupen un creixement descontrolat.

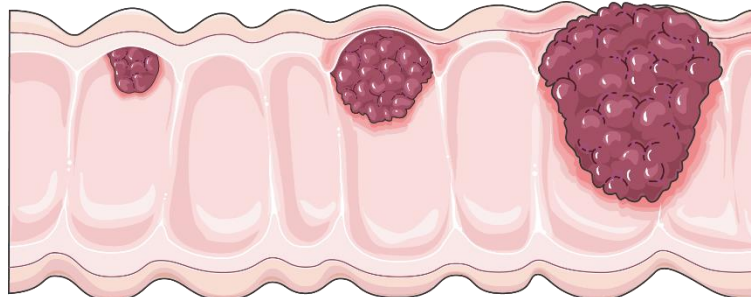
El càncer és una patologia **heterogènia**.



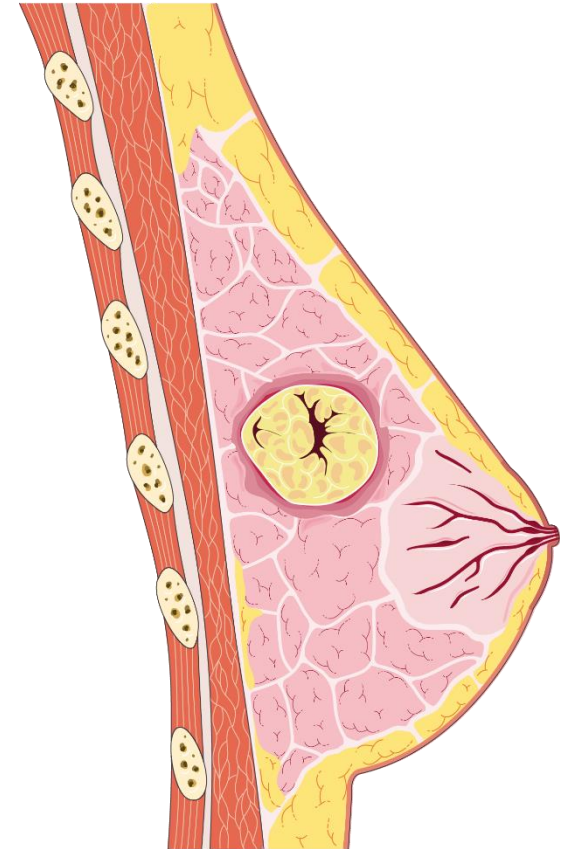
Càncer de pulmó



Càncer de pell

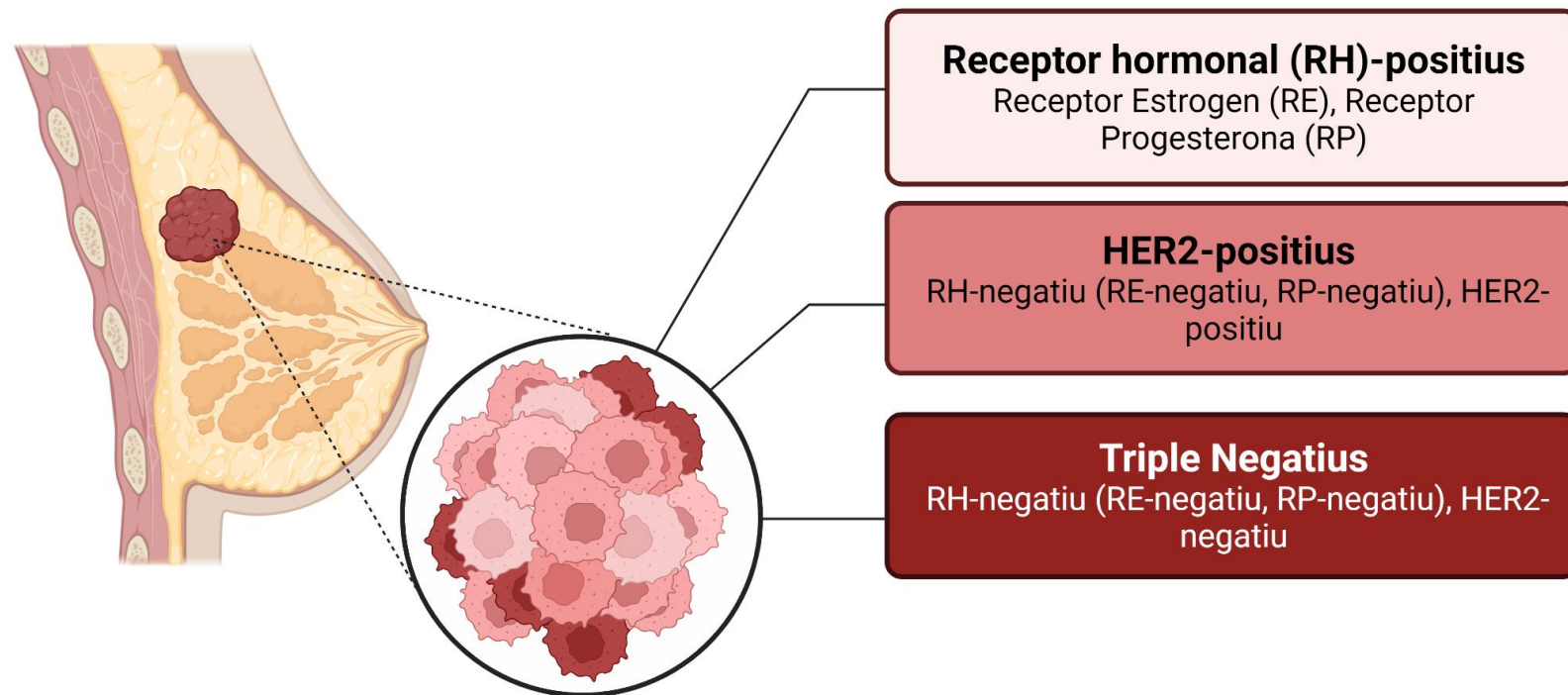


Càncer de colon



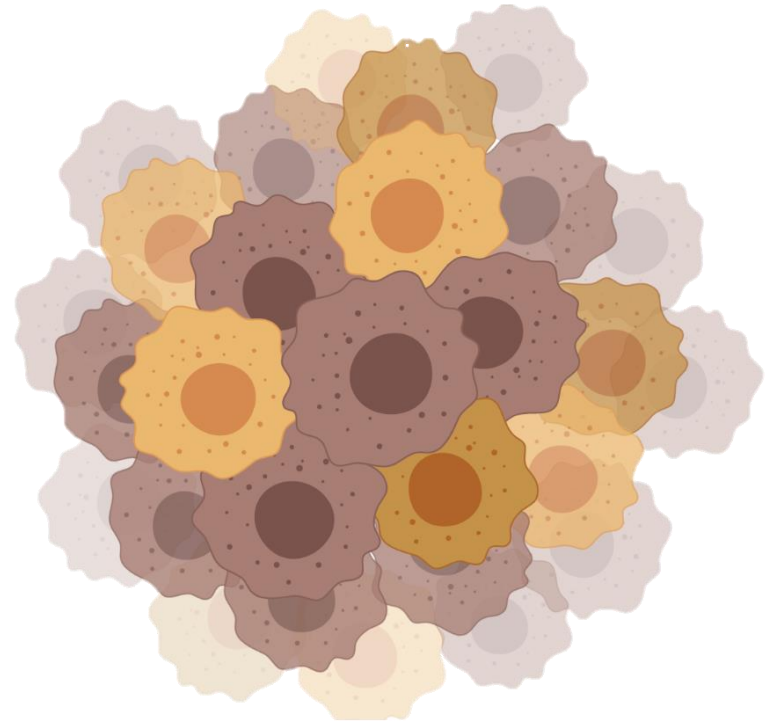
Càncer de mama

El càncer, una patologia heterogènia



Què fem al laboratori

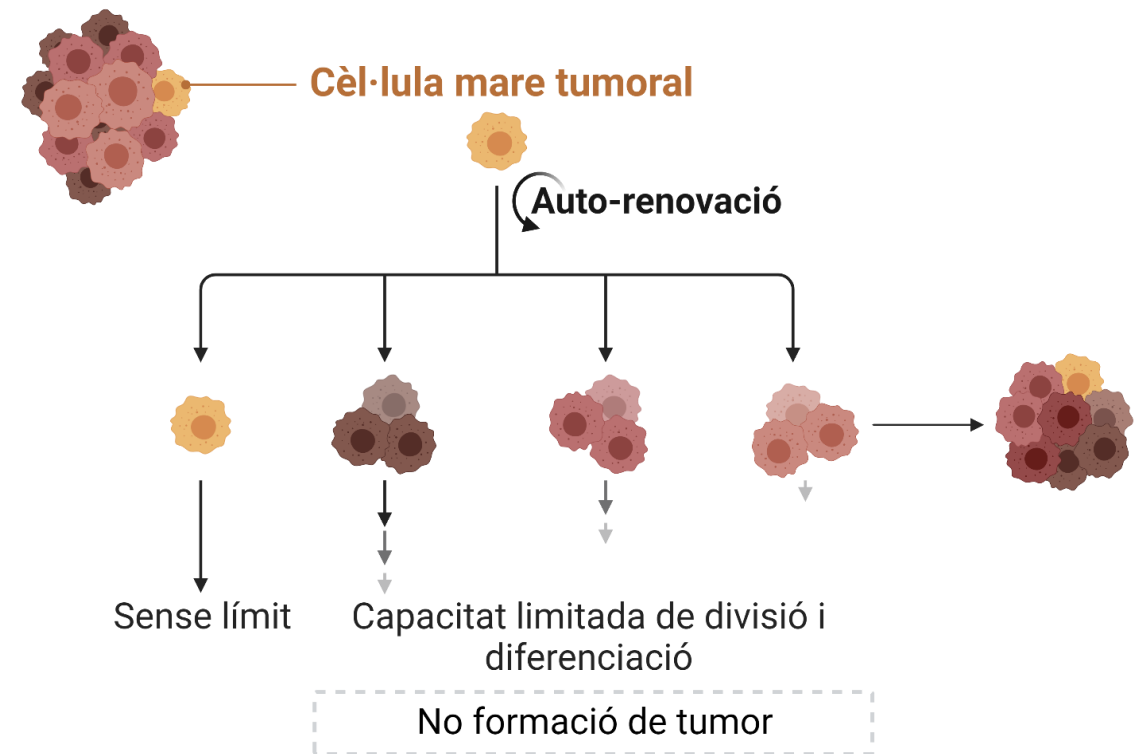
1. Il·lustrar **jerarquies cel·lulars** en tumors
2. Estudiar la intra- i inter-heterogeneïtat tumoral
3. Buscar noves oportunitats terapèutiques per aconseguir una medicina personalitzada dirigida contra poblacions cel·lulars específiques



Jerarquies cel·lulars

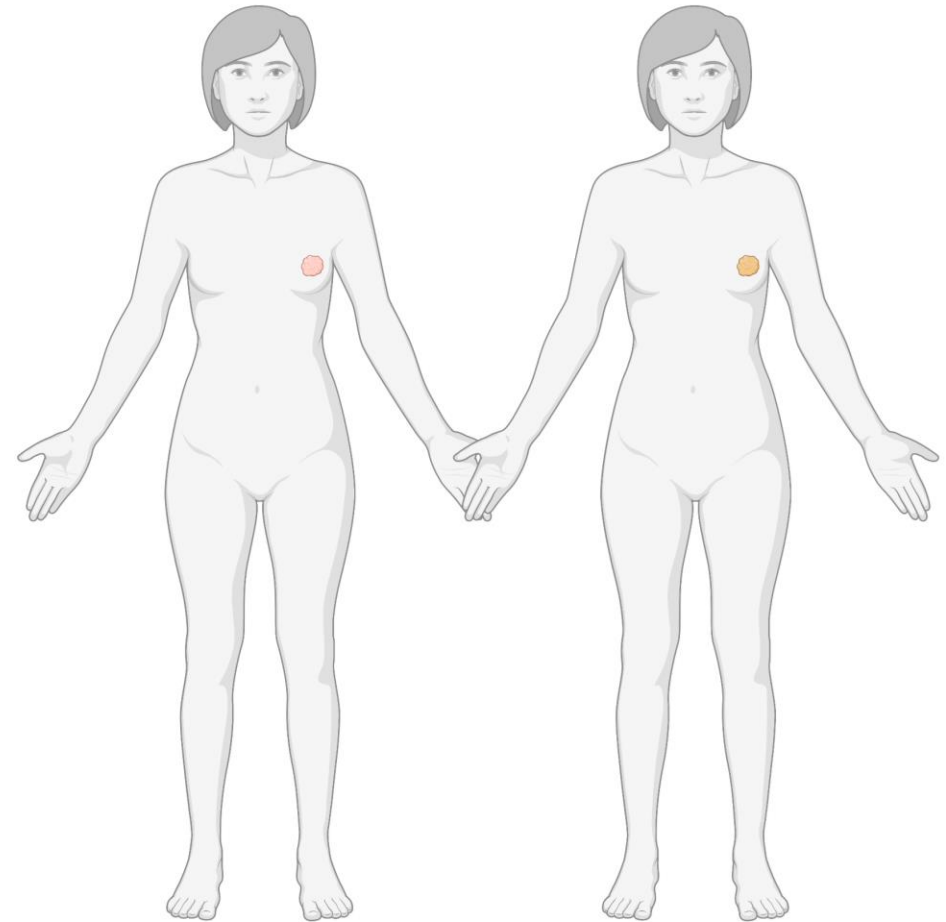
Cèl·lula mare

1. **Auto-renovació:** capacitat il·limitada de d'auto-mantenir-se en el temps
2. **Multipotència:** capacitat de donar lloc a diferents tipus cel·lulars



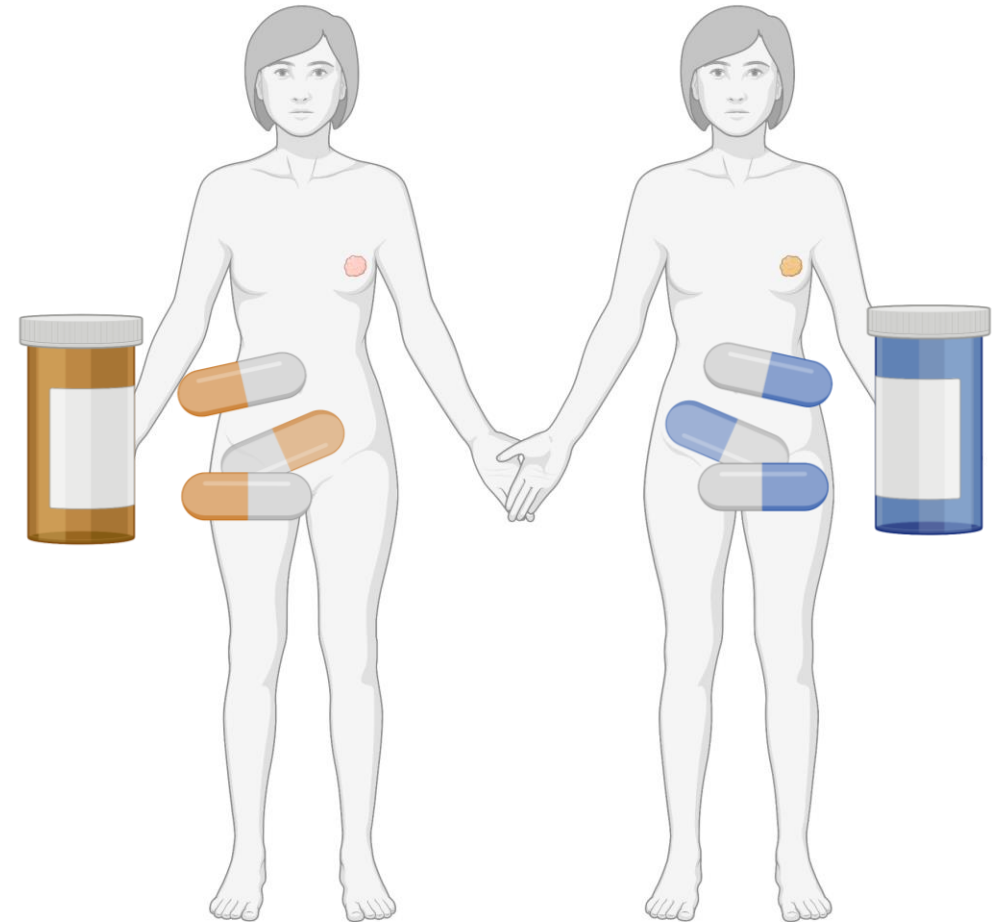
Què fem al laboratori

1. Il·lustrar jerarquies cel·lulars en tumors
2. Estudiar la **intra- i inter-heterogeneïtat tumoral**
3. Buscar noves oportunitats terapèutiques per aconseguir una medicina personalitzada dirigida contra poblacions cel·lulars específiques

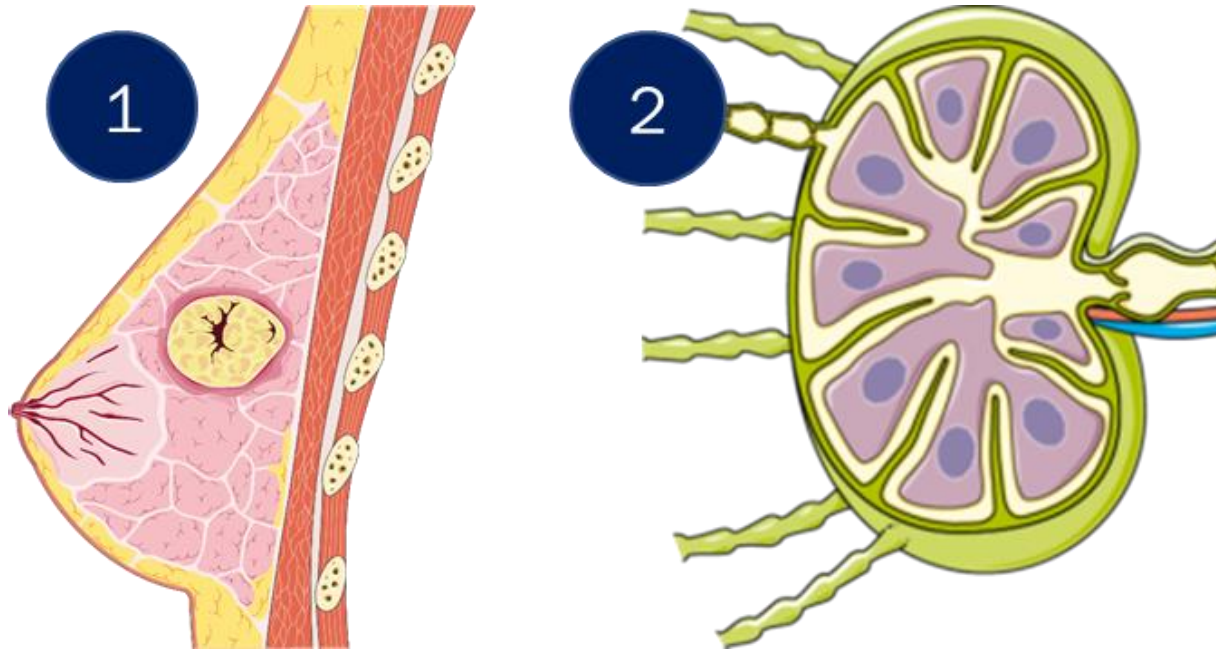


Què fem al laboratori

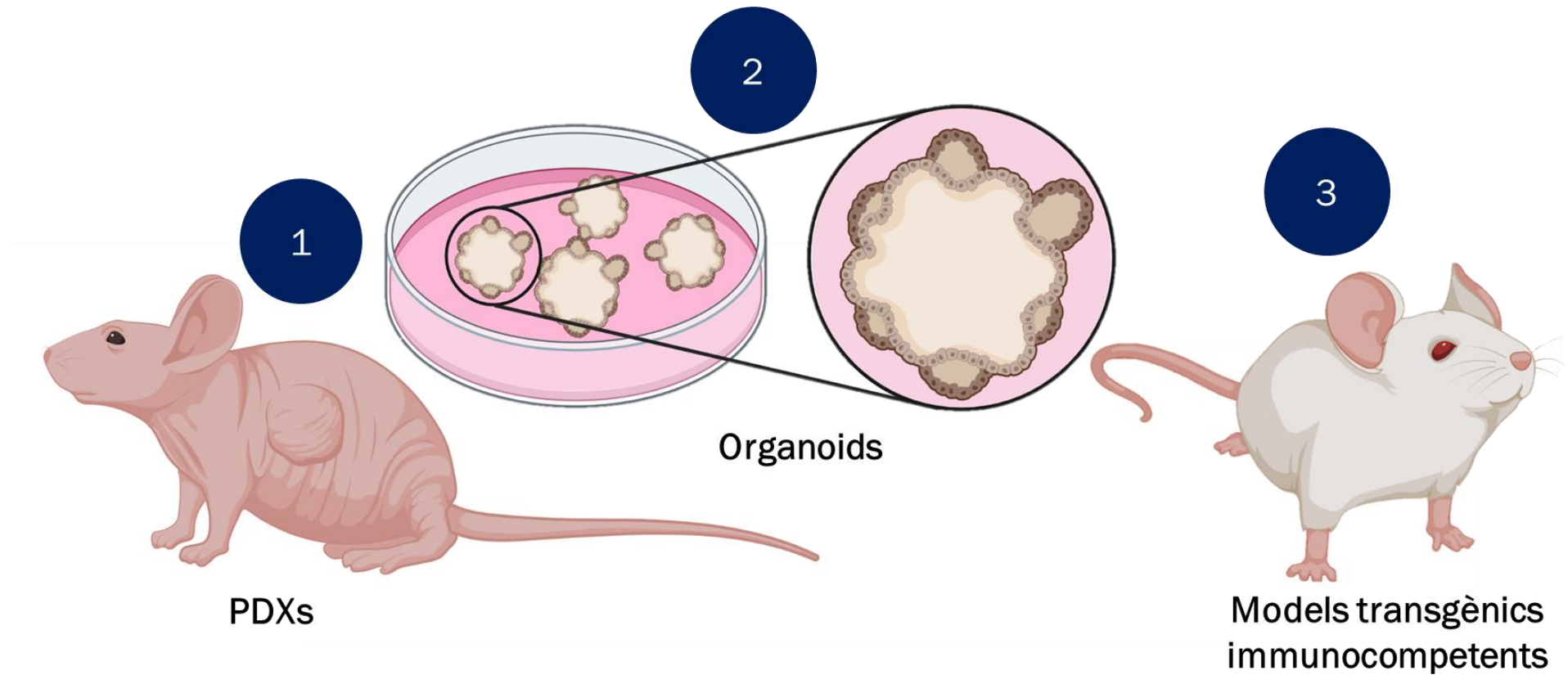
1. Il·lustrar jerarquies cel·lulars en tumors
2. Estudiar la intra- i inter-heterogeneïtat tumoral
3. Buscar noves oportunitats terapèutiques per aconseguir una **medicina personalitzada** dirigida contra poblacions cel·lulars específiques



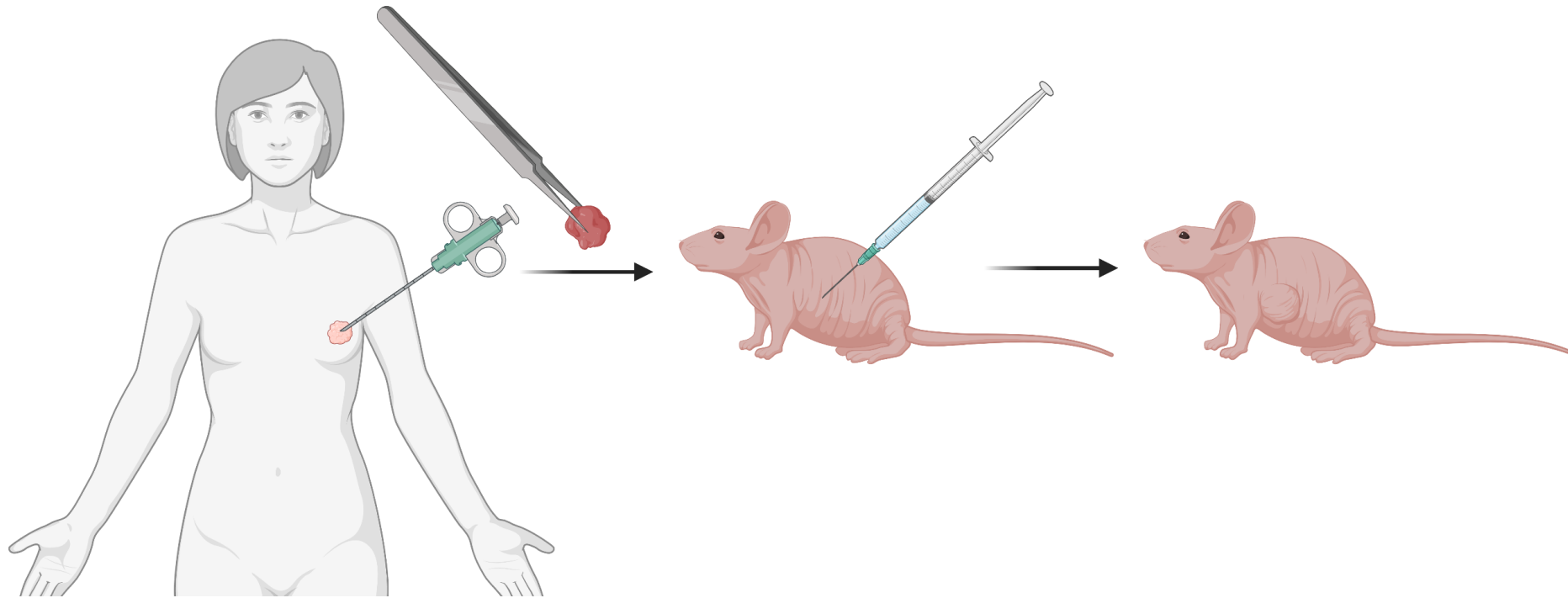
Què fem al laboratori



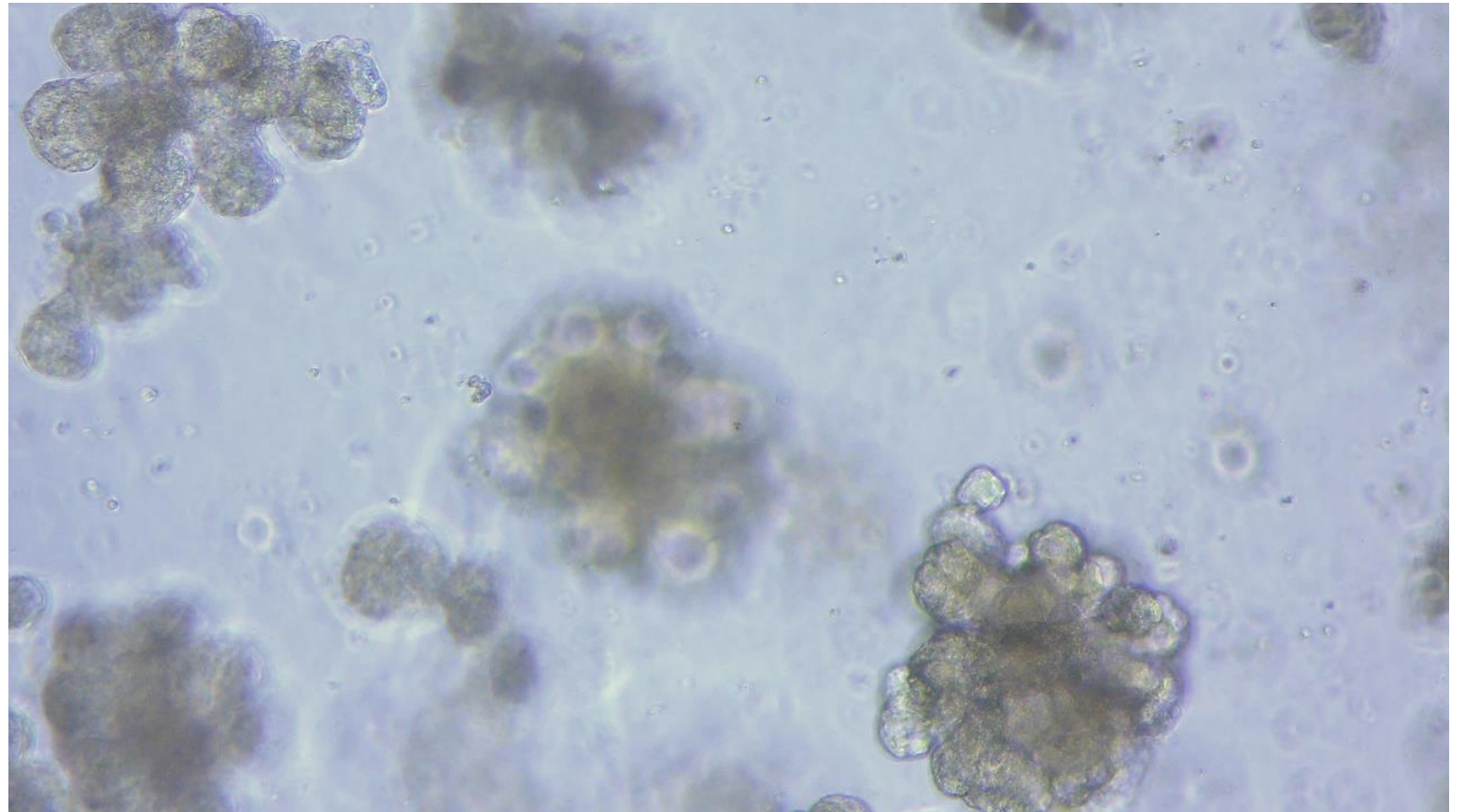
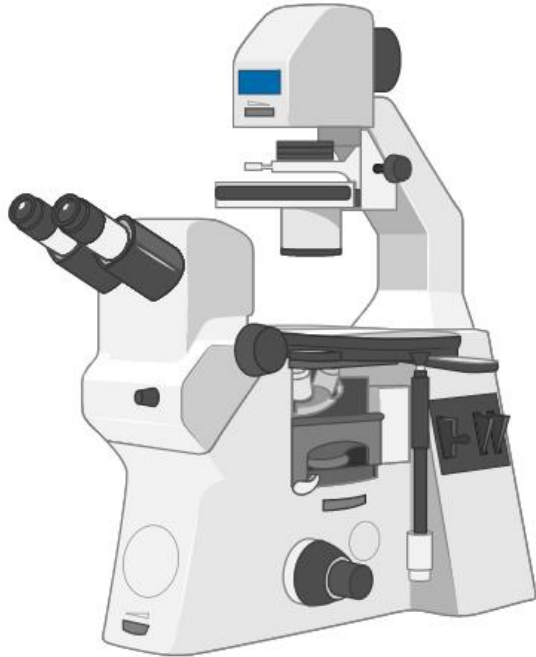
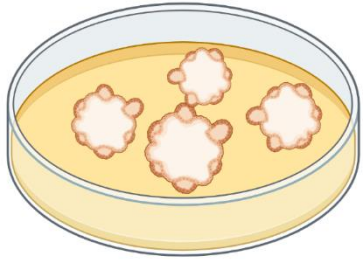
Què fem al laboratori



PDXs (patient-derived xenografts): Xeno-transplantaments derivats de pacients



Organoids: Cultius cel-lulars en 3D



Models transgènics



MMTV-PyMT



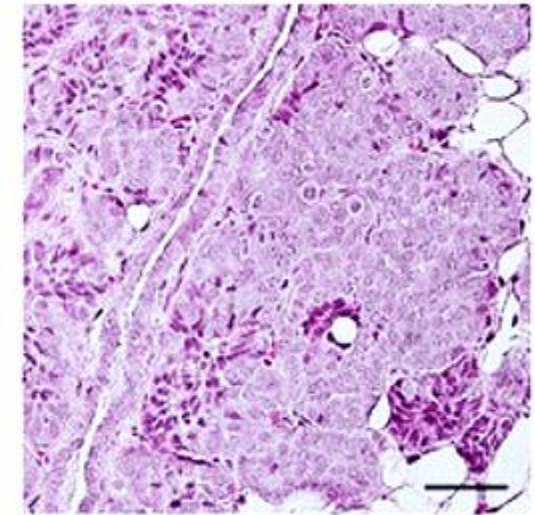
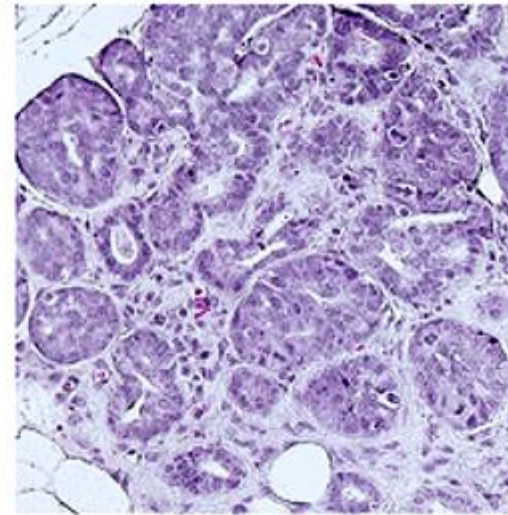
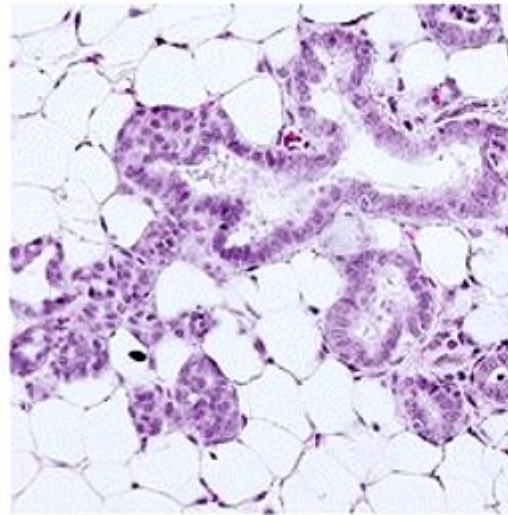
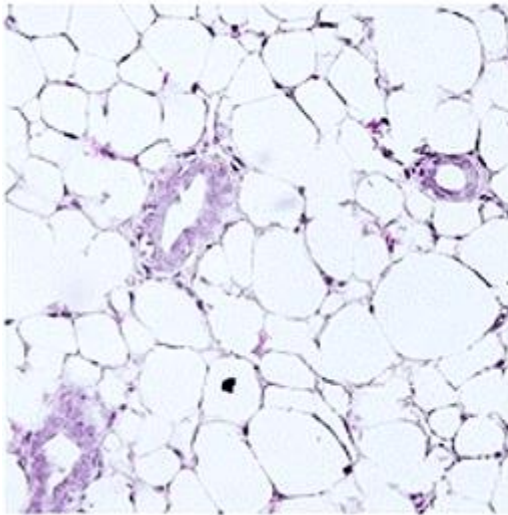
Neoplasia
(4 setmanes)

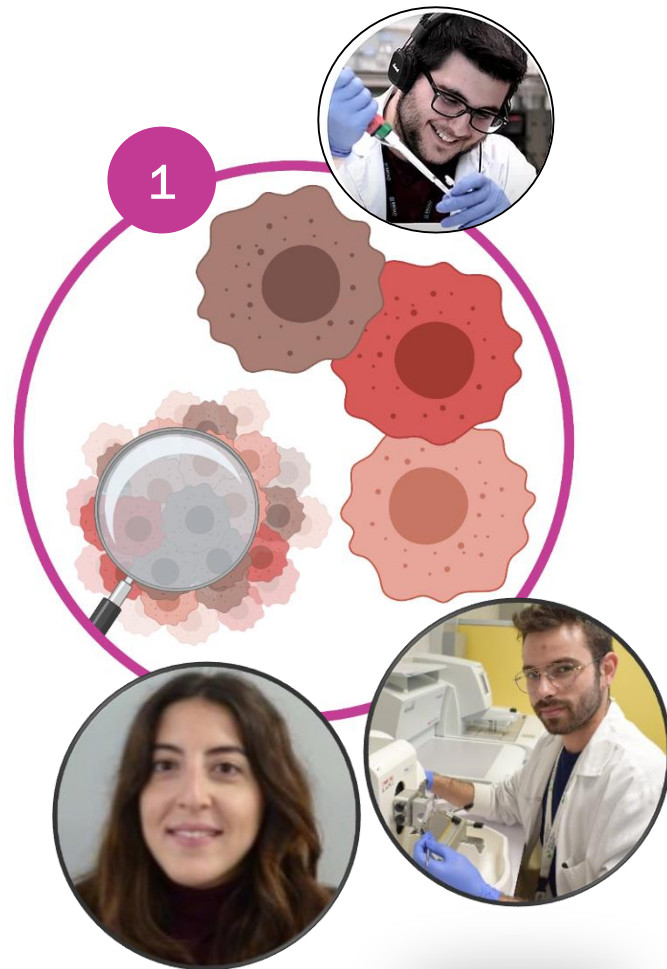


Adenoma
(9-10 setmanes)

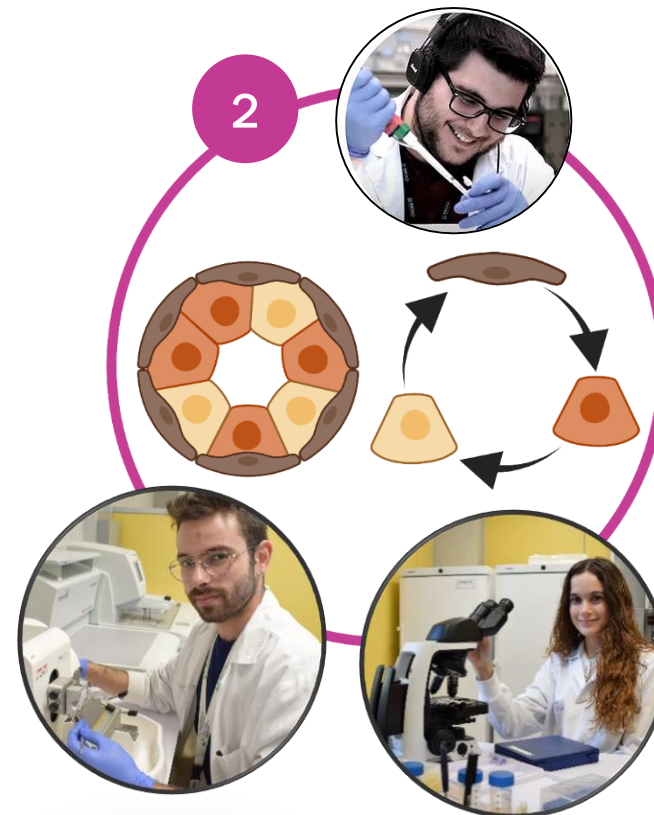


Carcinoma
(13-14 setmanes)





Recerca traslacional



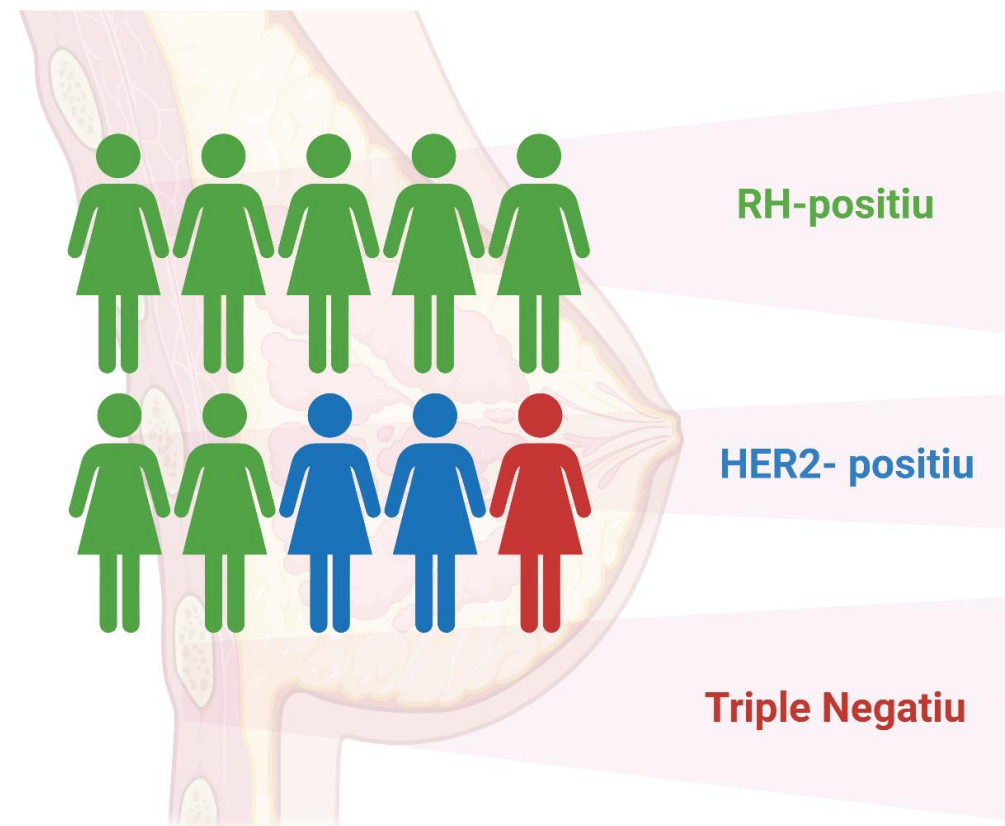
Recerca bàsica

Projecte traslacional

Càncer de mama

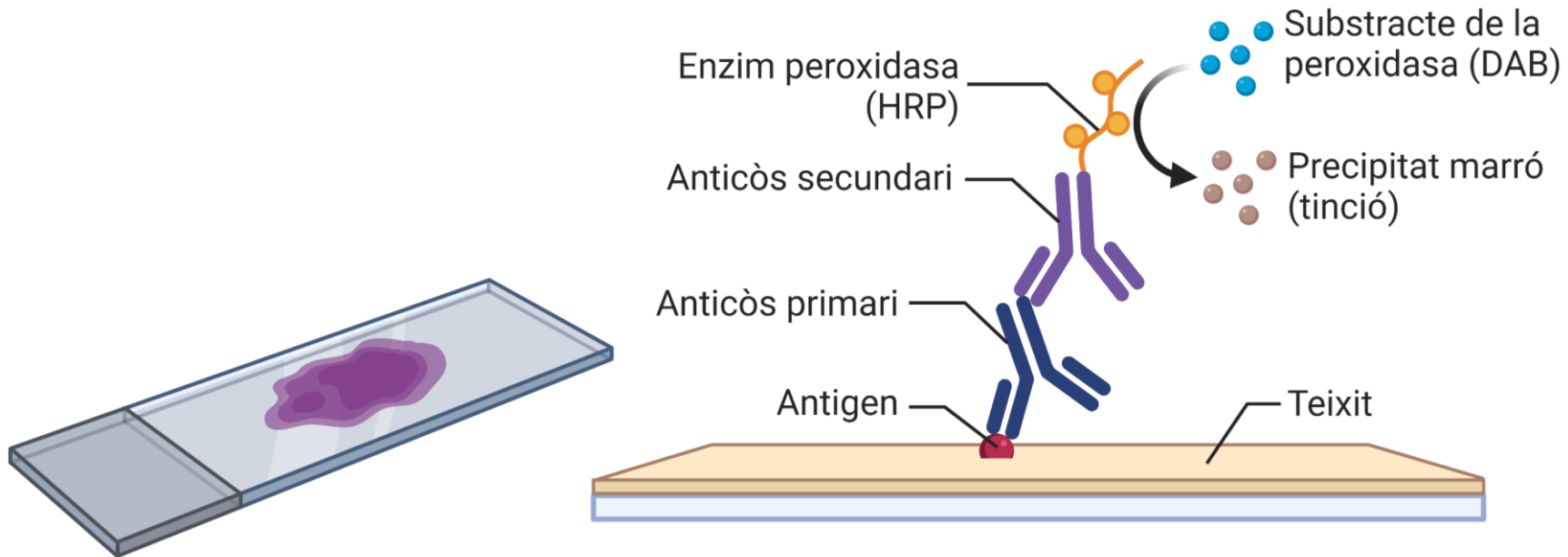
Marcadors al diagnòstic:

- Receptor hormonal (RH):
 - REx i RP (Receptor d'estrogen-alfa i progesterona)
- HER-2 (proteïna trans-membrana, receptor)
- Ki67 (Marcador de proliferació)



Immunohistoquímica

Detecció histològica de proteïnes



Projecte traslacional

Càncer de mama

Tipus de tumor:

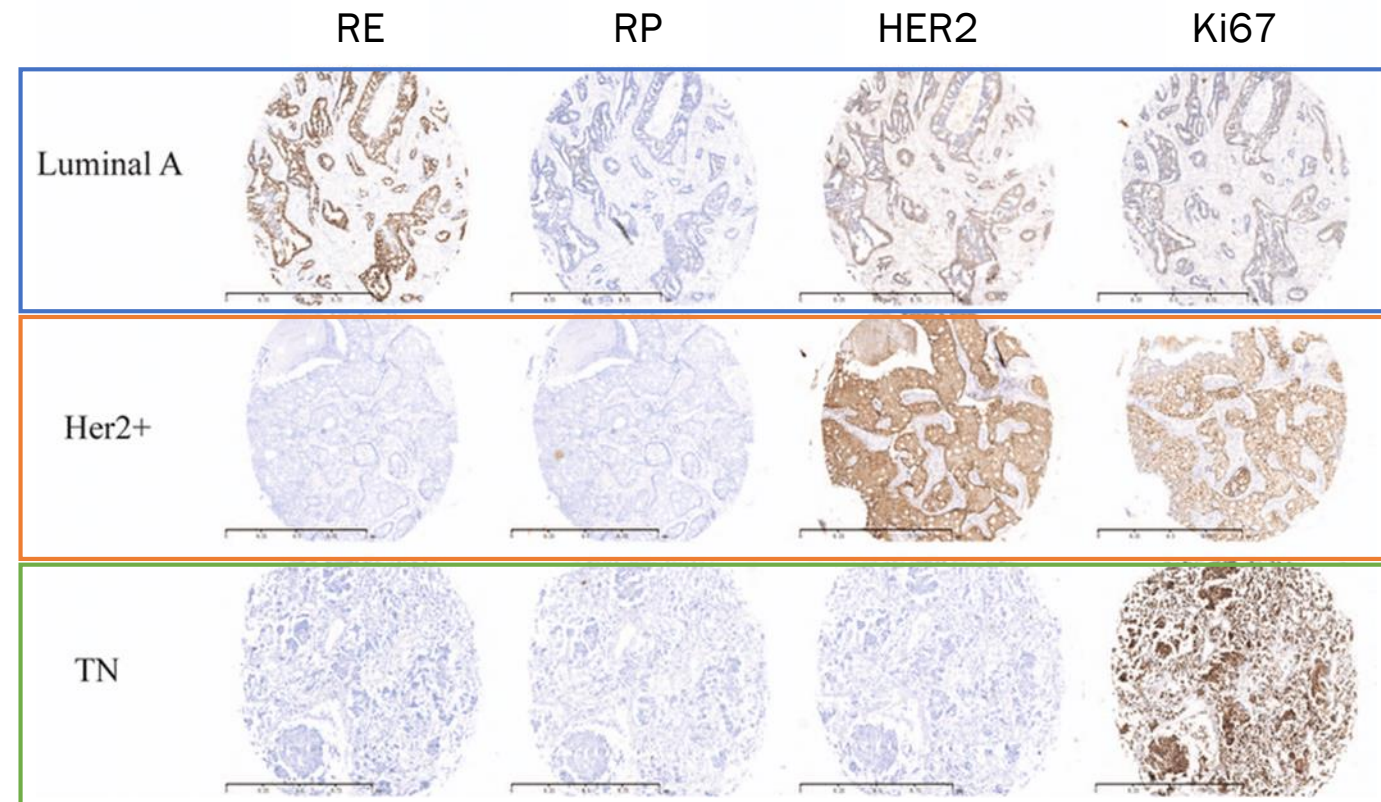
- Tumors amb receptors hormonals-positius (<10% RH⁺ cells)
- Tumors HER2-positius
- Tumors triple negatius (TNBC)

RE: receptor d'estrògens

RP: receptor de progesterona

HER2: receptor tirosina-quinasa (oncogen)

Ki67: marcador de proliferació cel·lular

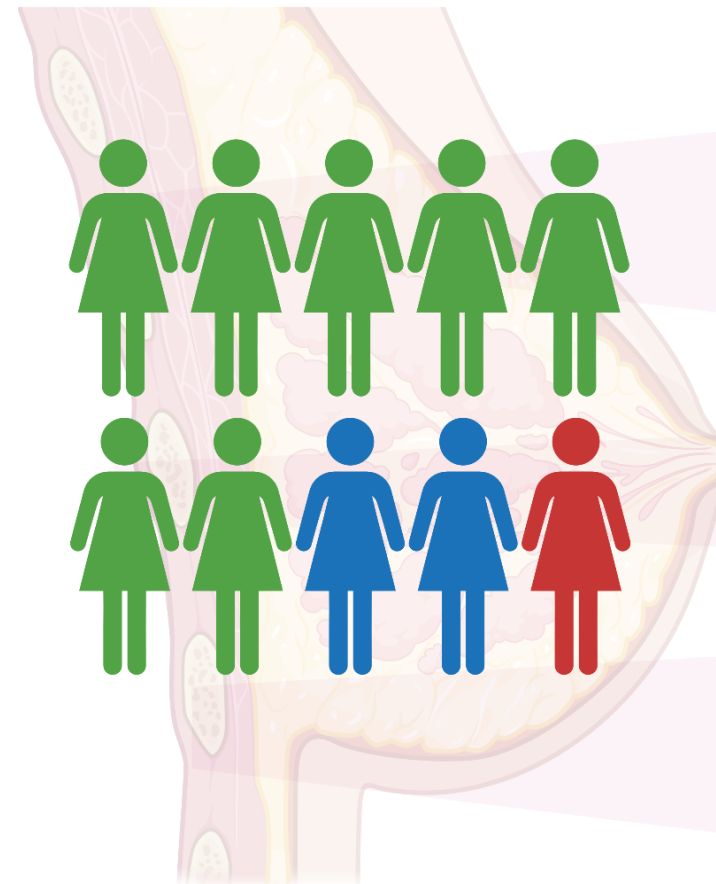


Projecte traslacional

Càncer de mama

Histologia clàssica vs seqüenciació d'última generació (NGS)

RH: receptor hormonal
HER2: receptor tirosina-quinasa (oncogen)



Histologia

RH-positiu

HER2- positiu

Triple Negatiu

Proteïna

Seqüenciació

Luminal A

Luminal B

HER2-enriched

Basal-like

Claudin-low

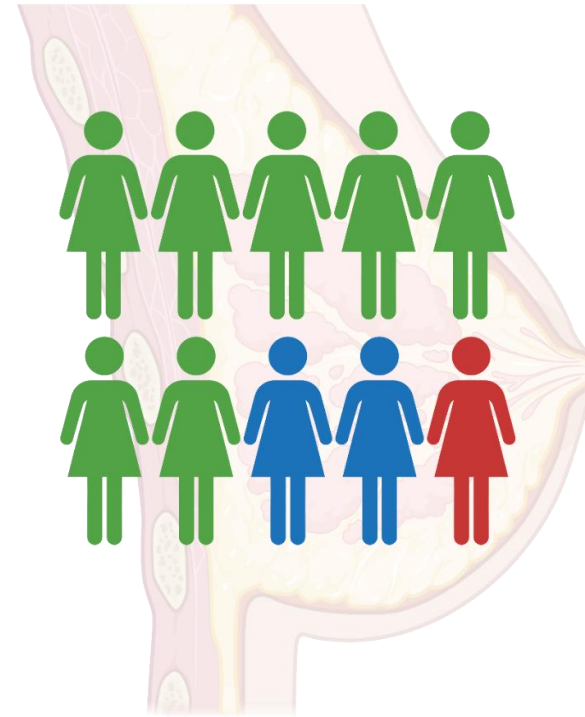
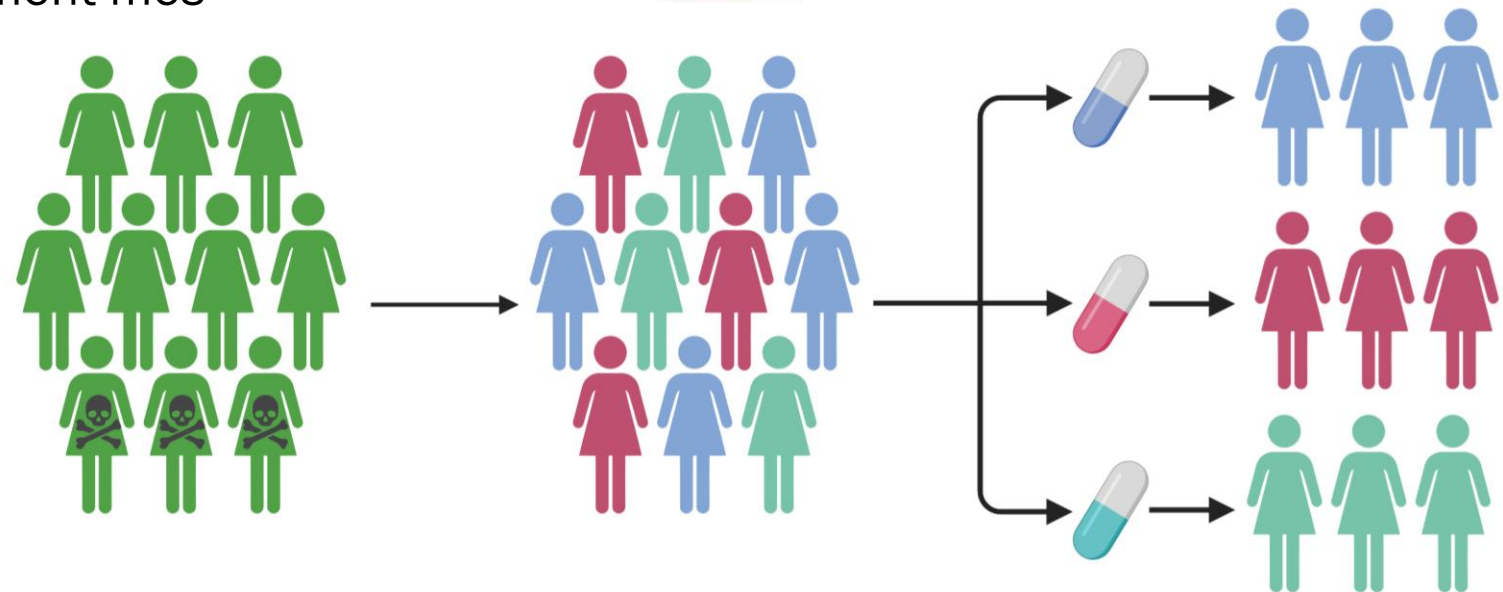
Expressió
gènica/Transcriptoma

Projecte traslacional

Càncer de mama

Què volem?

Descobrir nous marcadors que millorin el diagnòstic de les pacients amb càncer de mama per escollir un tractament més efectiu

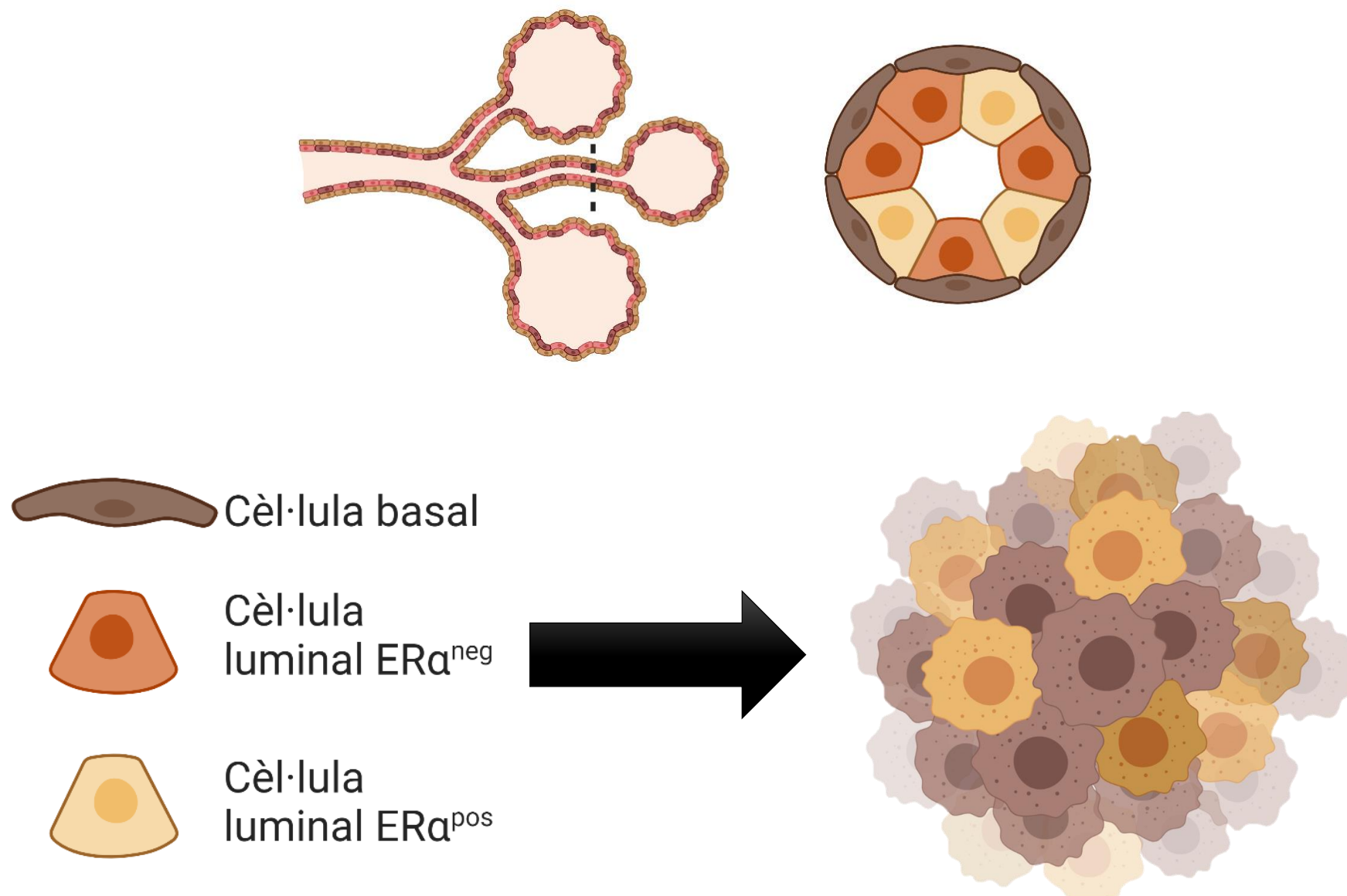


Projecte traslacional

Important!!

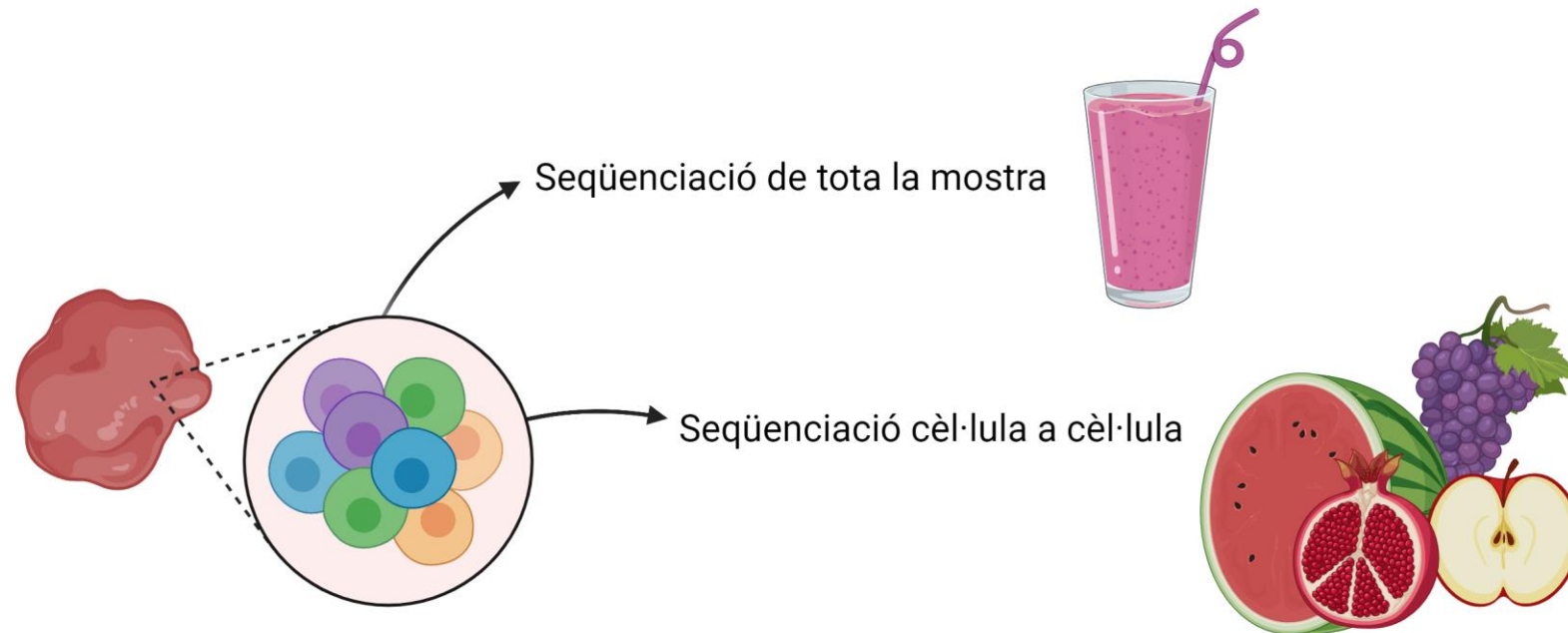
- ❑ Els equips multidisciplinars sempre sumen!
Grans col·laboradores:
Dra Mireia Margelí (Hospital Trias i Pujol)
Dra Elisabetta Mereu (IJC)
- ❑ Importància de les bases de dades públiques
(*Open access*)





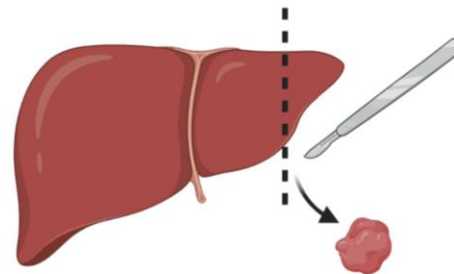
Seqüenciació a nivell de cèl·lula única

Single cell transcriptomics

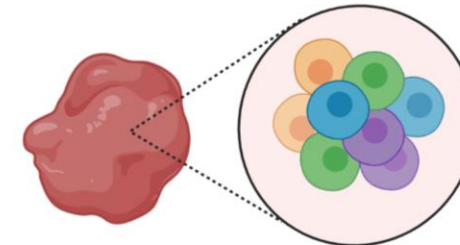


Seqüenciació a nivell de cèl·lula única

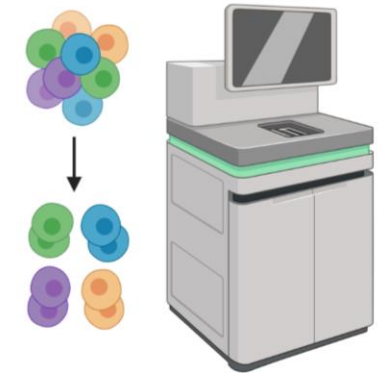
Procediment



① Dissecció del teixit



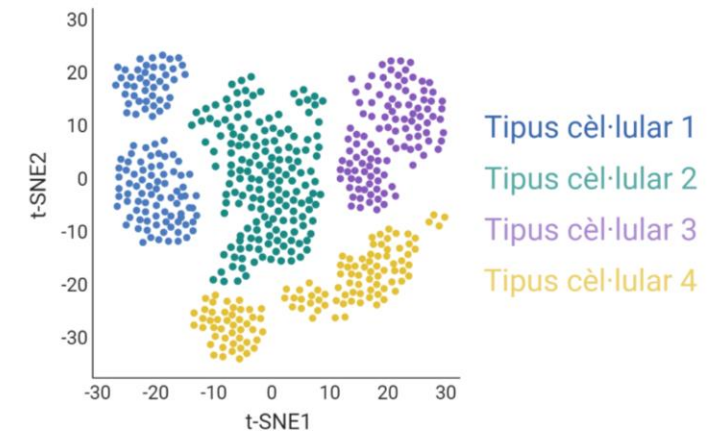
② Disgregació del teixit fins a aconseguir cèl·lules aïllades



③ Seqüenciació cèl·lula a cèl·lula



④ Perfil d'expressió gènica cèl·lula a cèl·lula, gen a gen

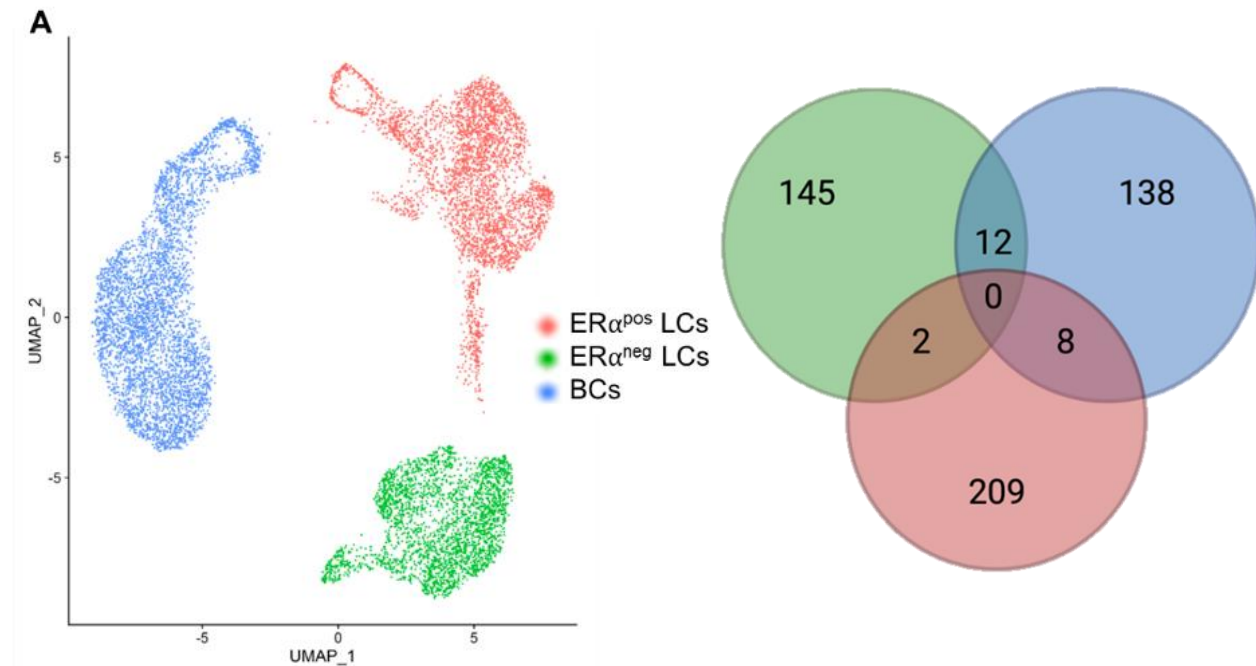
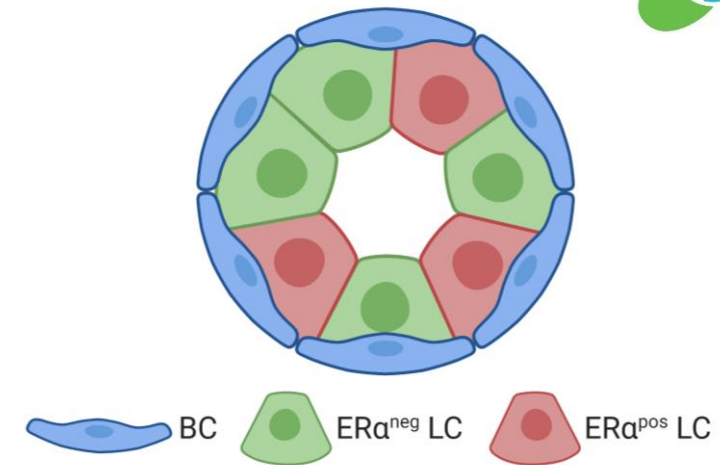


⑤ Agrupació i identificació del tipus cel·lular

Projecte traslacional

Disseny experimental

- ❑ De la glàndula mamària normal al tumor
- ❑ Criteris del nostre estudi:
 - ✓ Expressat exclusivament en una població cel·lular concreta
 - ✓ Expressat en <20% de teixits sans (*Human Protein Atlas*)

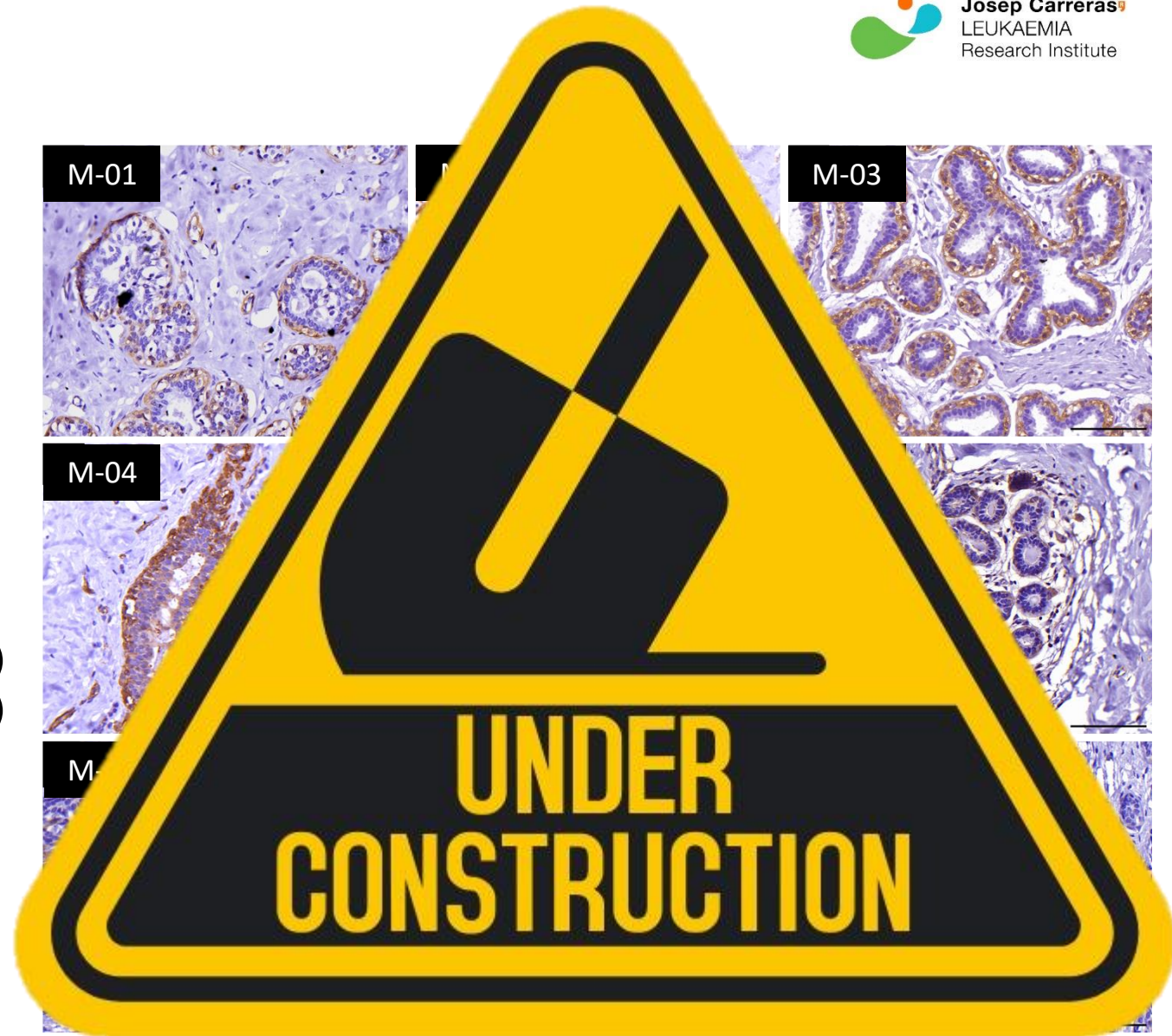


Projecte traslacional

Validació dels marcadors

- ☐ Per immunohistoquímica com fan actualment els patòlegs a la clínica
- ☐ Estudi retrospectiu (5 mostres per subtipus)
 - RH-positiu (<50% cèl·lules positives)
 - RH-positiu (>80% cèl·lules positives)
 - Triple negatiu
- ☐ Estudi ampliat amb n= 30-50 mostres
- ☐ Generació de PDXs per avaluar noves teràpies

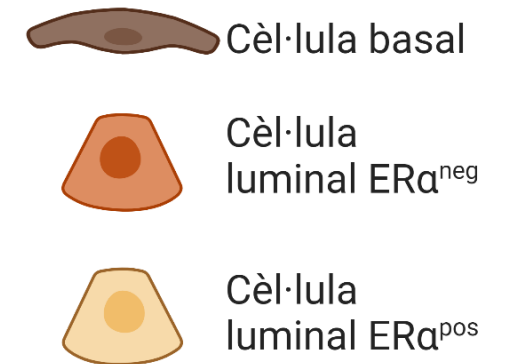
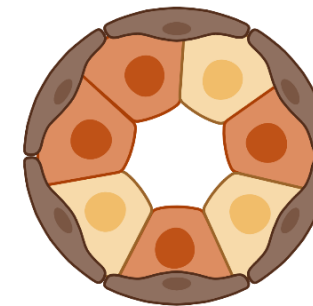
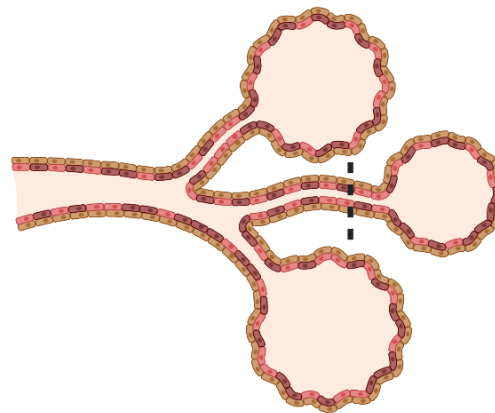
RH: receptor hormonal



Projecte bàsic

Introducció

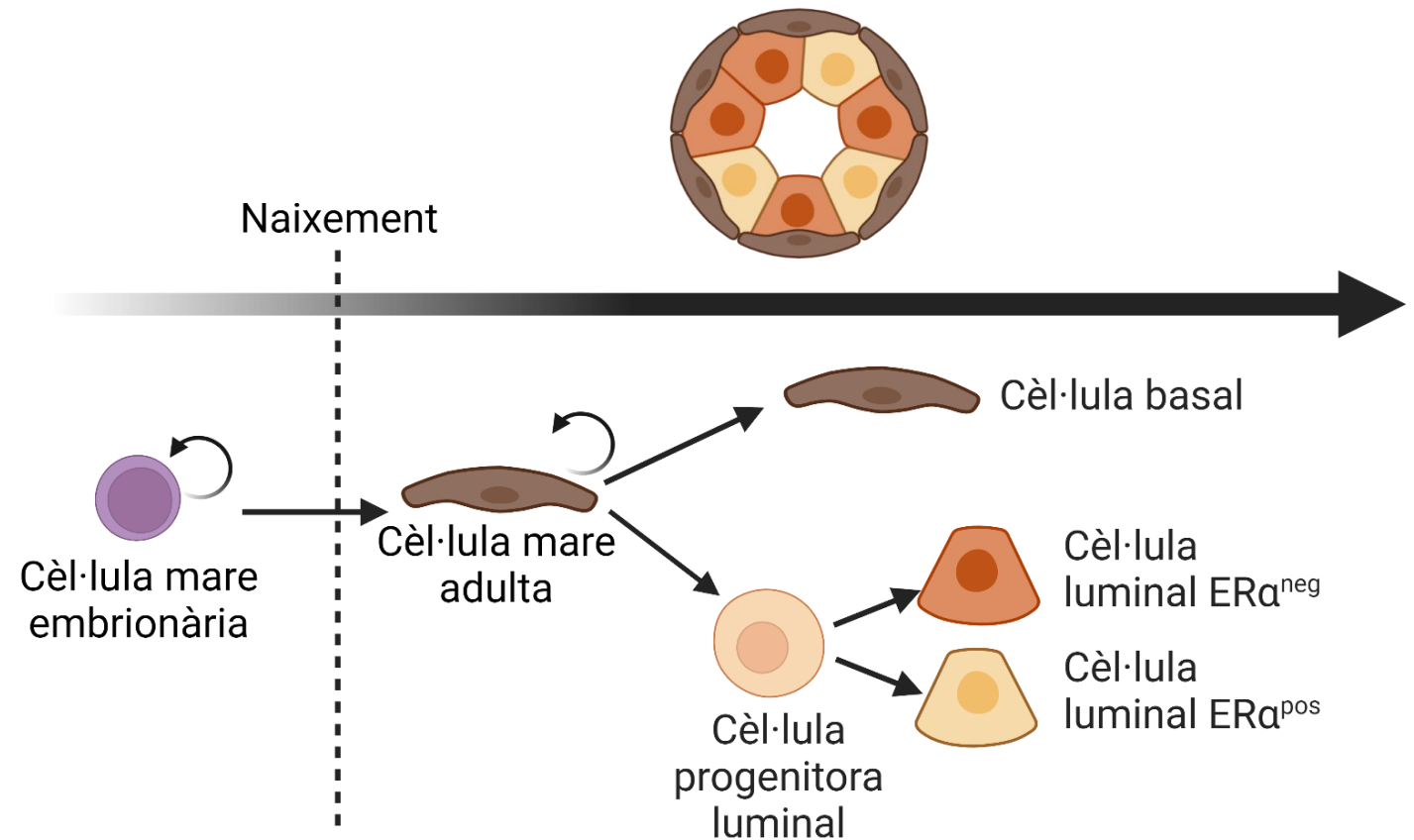
- ☐ Estructura de la glàndula mamària
- ☐ Jerarquies cel·lulars a l'epiteli de la glàndula mamària
- ☐ Disseny experimental



Projecte bàsic

Introducció

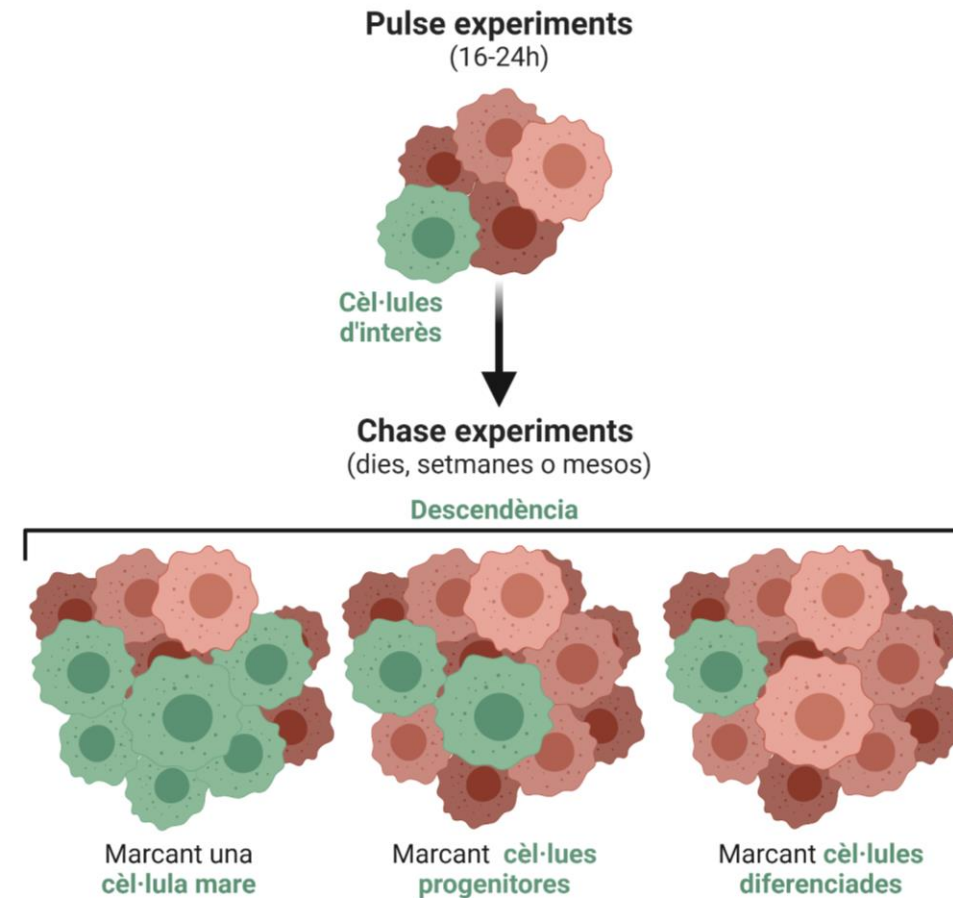
- ❑ Estructura de la glàndula mamària
- ❑ Jerarquies cel·lulars a l'epiteli de la glàndula mamària
- ❑ Disseny experimental



Projecte bàsic

Introducció

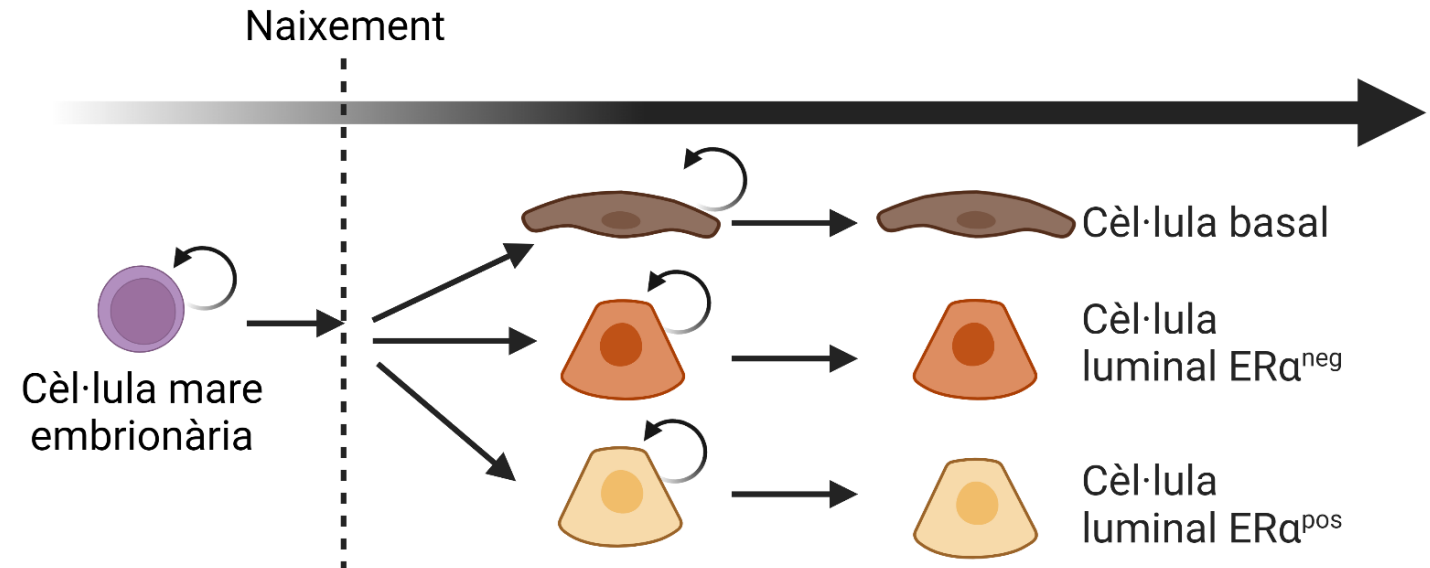
- ☐ Estructura de la glàndula mamària
- ☐ Jerarquies cel·lulars a l'epiteli de la glàndula mamària
- ☒ Disseny experimental:
Lineage tracing



Projecte bàsic

Introducció

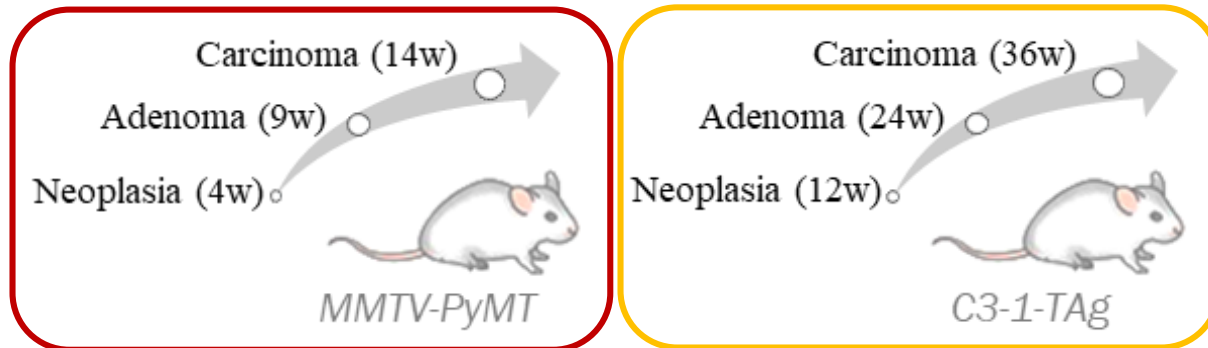
- ❑ Estructura de la glàndula mamària
- ❑ Jerarquies cel·lulars a l'epiteli de la glàndula mamària
- ❑ Disseny experimental



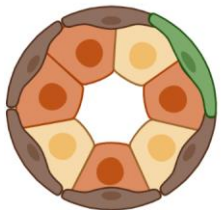
Lafkas et al. *JCB* 2013
Wang et al. *Cell Rep.* 2017
Rodilla et al. *PLoS Biol.* 2015
Van Keymuelen, et al. *Nature* 2013
Lilja and Rodilla, et al. *Nat. Cell Biol.* 2018

Projecte bàsic

Disseny experimental

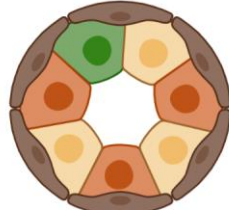


Cèl·lula basal



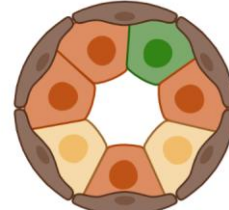
Acta2-Cre^{ERT2}

Cèl·lula luminal
 $RE\alpha^{neg}$

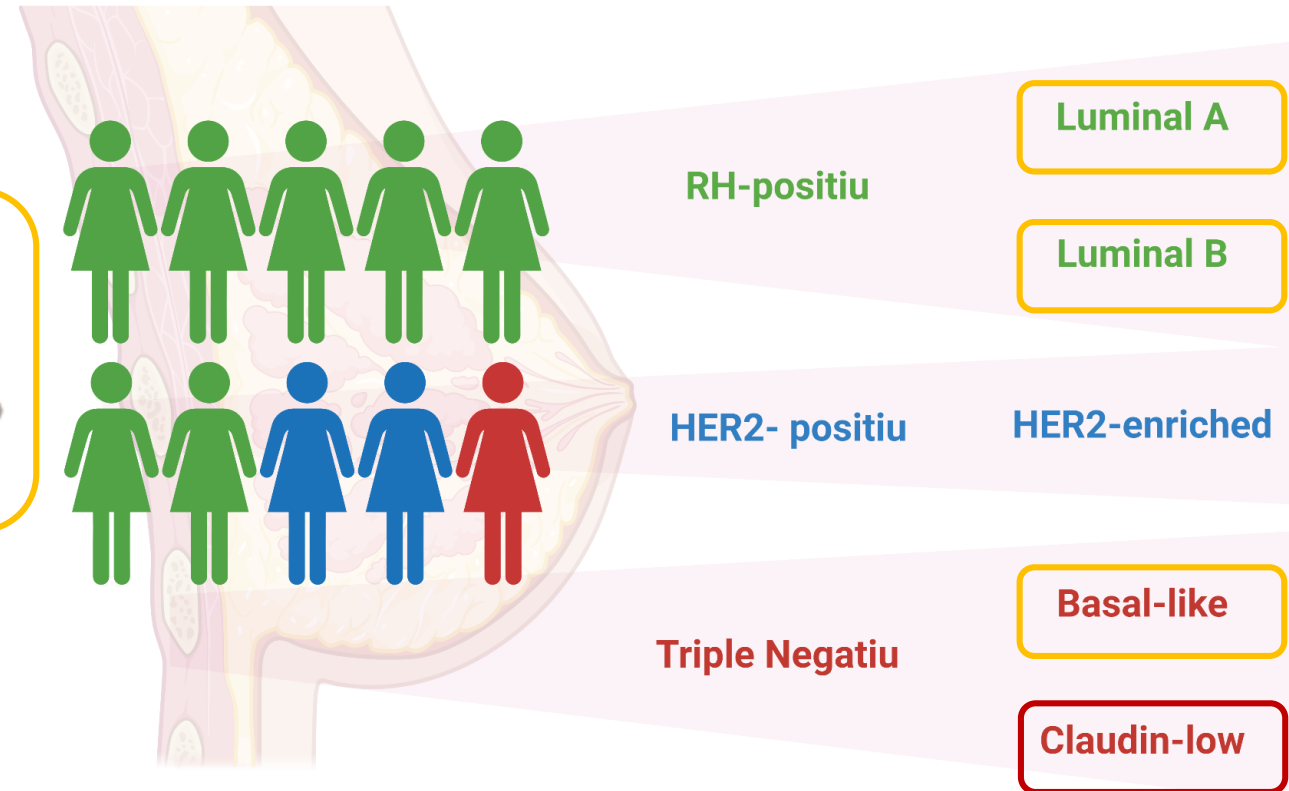


Notch1-Cre^{ERT2}

Cèl·lula luminal
 $RE\alpha^{pos}$



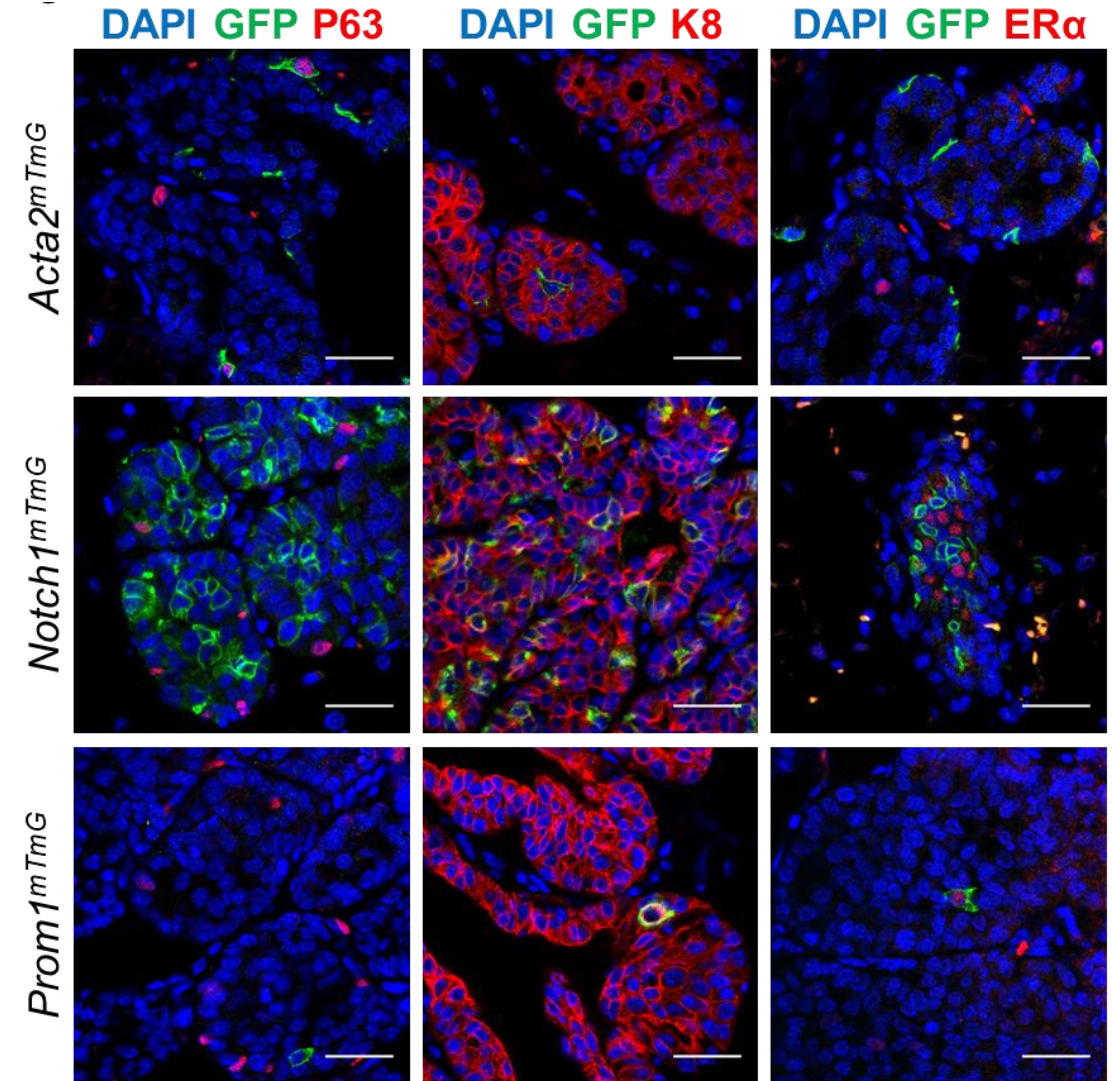
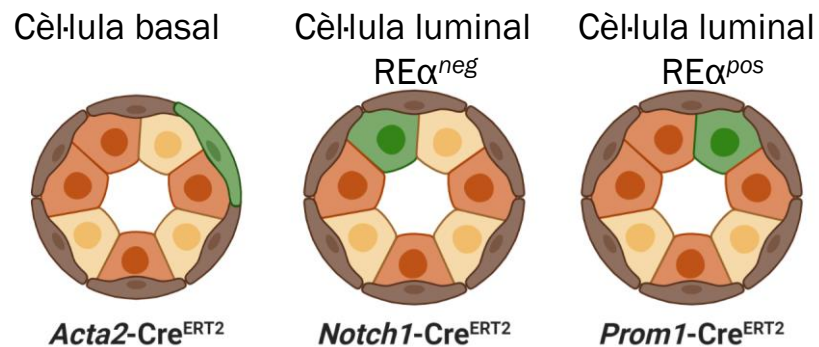
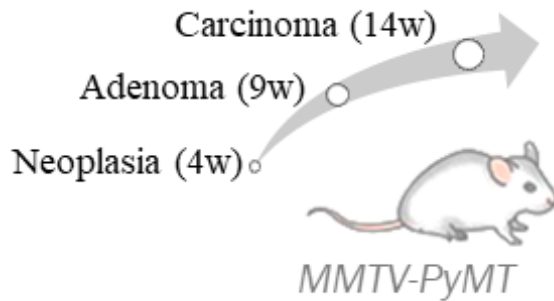
Prom1-Cre^{ERT2}



RH: receptor hormonal
RE: receptor d'estrògen
HER2: receptor tirosina-quinasa (oncogen)

Projecte bàsic

Disseny experimental

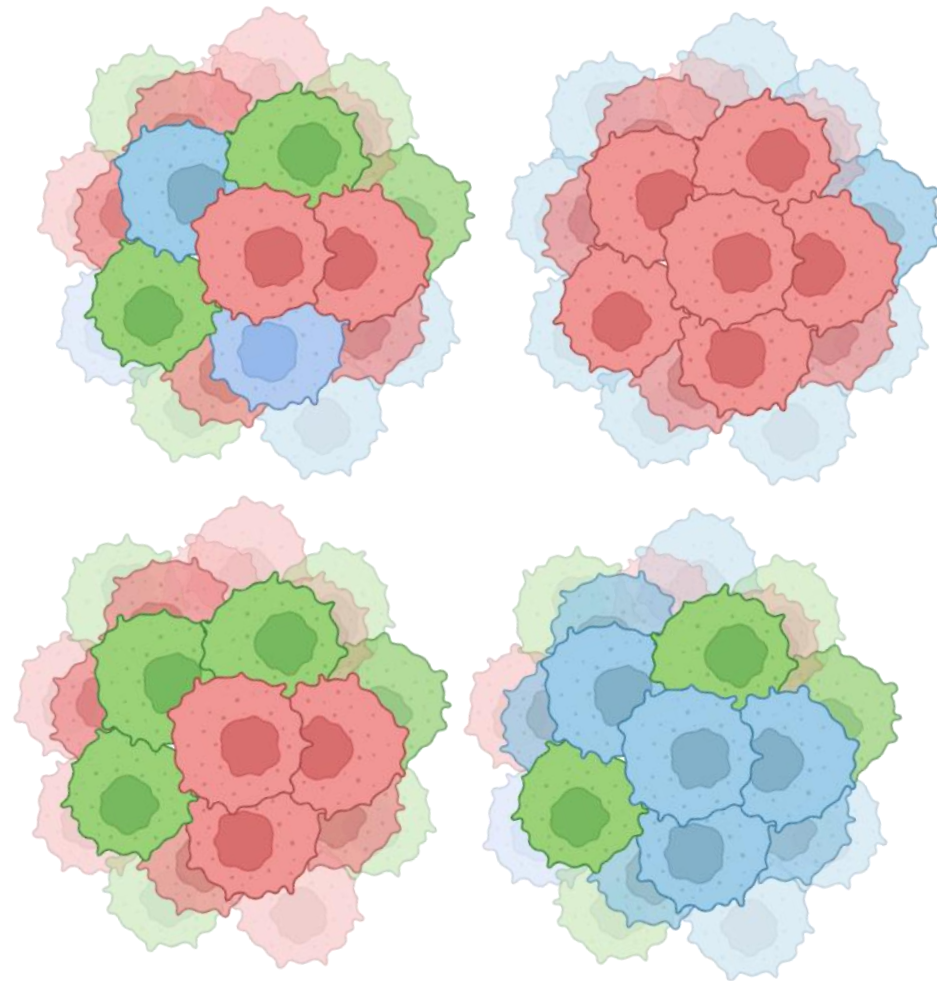


DAPI: marcatge que tenyeix ADN, marca el nucli de la cèl·lula; GFP: proteïna verda fluorescent (marca les cèl·lules d'interès); P63: marca cèl·lules basals; K8: marca cèl·lules luminals; ER: receptor d'estrògens

Projecte bàsic

Preguntes principals

- ☐ Quin és l'origen cel·lular dels diferents subtipus de tumors? És compartit?
- ☐ Quin tipus cel·lular presenta més capacitat metastàtica més alta?
- ☐ Quina sensibilitat específica presenta cada tipus cel·lular en resposta a les teràpies actuals



Agraïments

Rodilla Lab

Elena Vinuesa
David Olivares
Joan Balibrea
Daniel Ortega
Cristina Guardia



Col·laboradores

Dra Mireia Margelí (oncòloga, ICO-Badalona)
Dra Elisabetta Mereu (doctora en matemàtiques, IJC)

aseica

investigando
en càncer

+queuntrail
ALCOI



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES



PERIS 2016
2020
Pla estratègic de recerca
i innovació en salut

Més oportunitats per fer preguntes!

vrodilla@carrerasresearch.org

PREGUNTES

PREGUNTES

PREGUNTES

PREGUNTES

PREGUNTES

PREGUNTES

PREGUNTES



Josep Carreras
LEUKAEMIA
Research Institute

Debat sobre experimentació animal

Debat sobre experimentació animal

CONTRES

- Inducció innecessària del patiment animal
- No sempre recapitulen el fenotip en humans
- Inversió de capital en investigació desaprofitada

PROS

- L'experimentació animal ha jugat un rol vital pràcticament a la totalitat dels descobriments mèdics de l'última dècada
- Compartim el 95% dels nostres gens amb els ratolins, són model efectiu

Regulació estricta & obligatòria

Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animals

1. Dades d'identificació del projecte

Títol

Número d'autorització del projecte (només per a sol·licituds de modificació o pròrrogues)

Nom i cognoms o raó social de l'usuari

Nom i cognoms de la persona responsable del projecte

2. Dades generals del procediment



Núm. del procediment dins la memòria del projecte (P1, P2,...)

Títol

Durada d'aquest procediment

Nombre de vegades que es preveu realitzar cada any

3. En relació a l'article 34 del Decret 214/1997, de 30 de juliol, pel qual es regula la utilització d'animals per a experimentació i per a altres finalitats científiques, cal indicar si el procediment està dins d'algun/s del/s supòsit/s següent/s:

- ☐ utilitzar animals de les espècies incloses en l'annex 1 de la Llei 5/95 que no hagin nascut ni hagin estat expressament criats en centres oficialment reconeguts (art. 34.a)
- ☐ utilitzar animals salvatges capturats en la natura i/o animals protegits o en perill d'extinció (article 34.b)
- ☐ realitzar procediments d'experimentació fora dels centres usuaris (article 34.c)
- ☐ alliberar els animals durant el procediment d'experimentació (article 34.d)
- ☐ realitzar procediments en els quals no s'utilitza anestèsia, analgèsia o altres mètodes per eliminar el dolor, el patiment o l'angoixa, per ser incompatibles amb els resultats perseguits pel procediment o per estar contraindicada (article 34.e)
- ☐ l'alliberament al medi originari d'aquests animals, en aquells procediments d'experimentació en els que s'han utilitzat animals capturats en la natura (article 34.f)
- ☐ executar procediments d'experimentació en què l'animal pot patir un dolor greu i perllongat (article 34.g)
- ☐ realitzar procediments ja aprovats en els quals hi hagi hagut una modificació rellevant de la memòria descriptiva prevista a l'article 37.2 del Decret (article 34.h)
- ☐ utilitzar en procediments d'experimentació animals que han estat sotmesos prèviament a un altre procediment (article 34.i)

4. Finalitat/s del procediment

- ☐ Recerca fonamental.
- ☐ Recerca translacional o aplicada, i els mètodes científics amb qualsevol de les finalitats següents:
- ☐ La prevenció, la profilaxi, el diagnòstic o el tractament de malalties, mala salut o altres anomalies o els seus efectes en els éssers humans, els animals o les plantes.
 - ☐ L'avaluació, la detecció, la regulació o la modificació de les condicions fisiològiques en els éssers humans, els animals o les plantes.
 - ☐ El benestar dels animals, en particular la millora de les condicions de producció dels animals criats amb fins agropecuaris.
- ☐ El desenvolupament i la fabricació de productes farmacèutics, aliments, pinsos i altres substàncies o productes, així com la realització de proves per comprovar-ne la qualitat, l'eficàcia i la seguretat, amb qualsevol de les finalitats següents:
- ☐ La prevenció, la profilaxi, el diagnòstic o el tractament de malalties, mala salut o altres anomalies o els seus efectes en els éssers humans, els animals o les plantes.
 - ☐ L'avaluació, la detecció, la regulació o la modificació de les condicions fisiològiques en els éssers humans, els animals o les plantes.
 - ☐ El benestar dels animals, en particular la millora de les condicions de producció dels animals criats amb fins agropecuaris.
- ☐ La protecció del medi natural en interès de la salut o el benestar dels éssers humans o els animals.
- ☐ La recerca adreçada a la conservació de les espècies.
- ☐ L'ensenyament superior o la formació per a l'adquisició o millora de les aptituds professionals.
- ☐ La medicina legal i forense.
- ☐ El manteniment d'una colònia d'animals genèticament alterats (d'acord amb l'art. 3.1f del RD 53/2013), no utilitzats en altres procediments.

5. Dades dels animals que s'utilitzaran (espècie i nombre)



Espècie	Soca o raça	Edat i unitats	Pes i unitats
Macaco Rhesus (Macaca mulatta) ±			

Si Altres, especifiqueu quina: _____

Expliqueu la idoneïtat de l'espècie seleccionada per assolir l'els objectiu/s previst/os.

Sexe

- ☐ Només Mascles
- ☐ Només Femelles
- ☐ Mascles i Femelles

En el cas de l'ús d'un sol sexe: justifiqueu la idoneïtat del sexe dels animals a utilitzar (científicament, èticament, en base a requeriments legals...)

En el cas de l'ús dels dos sexes: indiqueu el nombre i justifiqueu la proporció (percentatge) de mascles i femelles de cada grup d'animals del procediment

Nombre estimat d'animals (de cada grup i totals) que s'utilitzarà en el procediment

Quines mesures heu pres per assegurar-vos que s'utilitzarà el mínim nombre d'animals possible?

Heu realitzat una anàlisi estadística per a determinar el nombre d'animals que cal utilitzar per a obtenir resultats científicament rellevants?

☐ Sí. Incloeu-la o indiqueu-ne la referència: _____

☐ No. Justifiqueu-ho: _____

6. Procedència dels animals

☐ Centres de cria o subministrador d'animals per a l'experimentació. Identificar nom/s i número/s de registre del/s centre/s: _____

☐ Altres centres d'origen. Identificar nom/s i número/s de registre del/s centre/s: _____

Justifiqueu la utilització d'animals que no hagin estat criats per usos experimentals: _____

☐ Animals salvatges capturats en la natura, animals protegits o en perill d'extinció o d'espècies amenaçades de l'Annex A del Reglament (CE) núm. 338/97¹

Número d'autorització de la captura: _____

Justifiqueu científicament que la finalitat del procediment no es pot aconseguir utilitzant animals d'altres espècies:

☒ Animals genèticament alterats (modificats genèticament o animals mutants) per a la/pel **manteniment** d'una línia.

Si és per a la creació, indiqueu l'alteració prevista del fenotip: _____

Si és pel manteniment, indiqueu l'alteració del fenotip: _____

☐ Animals reutilitzats

Indiqueu el núm. d'ordre del/s projecte/s o procediment/s anterior/s _____.

Indiqueu la severitat del/s procediment/s anterior/s en que s'han utilitzat: _____

De quina manera garanteu la recuperació total de l'estat de salut general i de benestar dels animals? _____

De quina manera garanteu la no interferència entre els diferents projecte/s o procediment/s anterior/s? _____

☐ Primats no humans

Justifiqueu científicament que la finalitat del procediment no es pot aconseguir utilitzant animals no primats:

Especifiqueu el tipus de primateu no humà que utilitzareu:

☐ de les espècies enumerades a l'annex A del Reglament (CE) núm. 338/97¹ no previstes en els supòsits de l'article 7.1.

Justifiqueu científicament que la finalitat del procediment no es pot aconseguir si no s'utilitzen aquest animals:

El procediment es duu a terme amb la finalitat d'evitar, prevenir, diagnosticar o tractar malalties discapacitants o que potencialment puguin posar en perill la vida dels éssers humans? ☐ Sí - ☐ No

7. Disseny i metodologia

Descriviu, de forma seqüencial i detallada, la tècnica o tècniques previstes per a la realització del procediment.

Privareu de menjar i/o beguda als animals?

☐ No - ☐ Sí, en les condicions següents:

Fase de la privació

De què el privareu

☐ Aliment

☐ Aigua

☐ Aliment

☐ Aigua

☐ Aliment

☐ Aigua

Hora inici

Durada (h)

Justifiqueu científicament la necessitat d'aquestes privacions (i la seva durada) i indiqueu si s'administra algun suplement.

Extraureu sang dels animals?

☒ No - ☐ Sí, en les condicions següents:

Via d'extracció

Volum de cada extracció (mL)

Freqüència d'extracció (pauta)

Descriviu de quina manera us heu assegurat que aquestes condicions siguin les més idònies.

8. Anestèsia i analgèsia

S'utilitzarà anestèsia?

☐ No perquè (justifiqueu científicament):

☐ Sí, parenteral:

Fase

Producte
(nom genèric)

Via administració

Volum
(mL/kg)

Dosi
(mg/kg)

Concentració
(mg/mL)

Control profunditat
anestèsica

☐ Sí, inhalatòria:

Fase

Producte
(nom genèric)

Indicar les concentracions en les fases d'inducció i manteniment

Control profunditat
anestèsica

☐ Sí, immersió:

Fase	Producte (nom genèric)	Concentració i unitats	Dosi (mg o mL/L tanc immersió)	Volum tanc d'immersió (L)	Nombre animals/tanc d'immersió	Control profunditat anestèsica
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

Descriu de quina manera s'ha assegurat que el protocol anestèsic proposat és el més adient.

S'utilitzarà analgèsia o d'altres productes per tal de reduir o suprimir el dolor, patiment o ansietat (p.e. antiinflamatoris)?

☐ No, perquè (justifiqueu científicament)

☐ Sí, s'utilitzarà l'analgèsia següent:

Fase	Producte (nom genèric)	Via administració	Dosi (mg/kg)	Concentració (mg/mL)	Pauta d'administració (inici, freqüència i durada)
☐	☐	☐	☐	☐	☐

Descriu de quina manera s'ha assegurat que l'administració (via, dosi, volum, pauta) d'aquests productes és la més adient.

9. Administració d'altres productes (diferents a anestèsics o analgèsics)

S'administren altres productes (diferents a anestèsics o analgèsics)

☐ No - ☐ Sí, s'administraran els següents:

Producte (nom genèric)	Via administració	Volum (mL/kg)	Dosi (mg/kg)	Concentració (mg/mL)	Freqüència (nombre, pauta)
☐	☐	☐	☐	☐	☐

Descriu de quina manera s'ha assegurat que l'administració (via, dosi, volum, pauta) d'aquests productes és la més adient.

10. Condicions d'allotjament, zootècniques i de cura dels animals



Les instal·lacions i condicions d'estabulació durant el procediment són diferents a les especificades a l'Annex II del RD 53/2013?

☐ No - ☐ Sí. Descriu les instal·lacions i les condicions d'estabulació:

L'estabulació dels animals es durà a terme en gàbies metabòliques?

☐ No - ☐ Sí. Amb una durada de: ☐

Les instal·lacions i condicions d'estabulació durant el procediment són diferents a les especificades a l'Annex II del RD 53/2013?

☐ No - ☐ Sí. Descriviu les instal·lacions i les condicions d'estabulació:

L'estabulació dels animals es durà a terme en gàbies metabòliques?

☐ No - ☐ Sí. Amb una durada de:

Quan els animals socials es mantinguin aïllats justifiqueu-ho i definiu-ne la durada.

Descripció dels elements d'enriquiment ambiental i social previstos:

11. Protocol de supervisió del patiment, el dolor o l'angoixa que puguin experimentar els animals.

Fases en les que es preveu que puguin patir patiment,
dolor o angoixa

Probabilitat d'incidència

Com es reconeixeran els signes o efectes adversos (patiment, dolor o angoixa)?

Descriviu detalladament el protocol de supervisió adaptat al procediment que ha de permetre reconèixer els possibles signes o efectes adversos descrits anteriorment.

Mesures correctores previstes per tal de prevenir i controlar els possibles signes o efectes adversos

El protocol s'aplicarà a partir del moment:

Es controlarà durant:

Es controlarà amb una freqüència de:

Realitzaran el control les persones següents:

12. Criteris de punt final

Indiqueu els motius i/o criteris d'aplicació d'eutanàsia humanitària abans de finalitzar el procediment:

Mètode d'eutanàsia previst per aplicació dels criteris del punt final:

☐ Mètode físic, inclòs en l'Annex III del RD 53/2013. Descripció del mètode:

☐ Mètode químic, inclòs en l'Annex III del RD 53/2013. Detall:

Producte (nom genèric)

Via administració

Dosi (mg/kg)

Concentració (mg/mL)

☐ Altres (mètodes no inclòs en l'Annex III del RD 53/2013). Descriviu-los:

Aporteu proves científiques on es consideri que aquest mètode és almenys igual d'humanitari o justifiqueu científicament que la finalitat del procediment no es pot aconseguir utilitzant cap dels mètodes d'eutanàsia que preveu l'annex III del RD 53/2013.

Indiqueu el mètode de confirmació de l'eutanàsia dels animals que s'utilitzarà, d'acord amb el que estableix el punt 2 de l'Annex III del RD 53/2013 (el mètode proposat ha de ser diferent i complementari al mètode principal utilitzat).

☒	Confirmació del cessament permanent de la circulació
☐	Destrucció del cervell
☐	Luxació cervical
☐	Dessagnament
☐	Confirmació del començament del <i>rigor mortis</i>

Altres mètodes de confirmació: descriure el mètode proposat i justificar la seva idoneïtat:

13. Finalització del procediment

En finalitzar el procediment està previst

☐ Eutanasiar els animals.

Justifiqueu per què és necessari eutanasiar els animals

Heu previst la possibilitat de la reutilització o reallotjament? ☐ Sí - ☐ No

Mètode d'eutanàsia en finalitzar el procediment:

☐ Mètode físic, inclòs en l'Annex III del RD 53/2013. Descriviu el mètode:

☐ Mètode químic, inclòs en l'Annex III del RD 53/2013. Detall:

Producte
(nom genèric)

Via
administració

Dosi
(mg/kg)

Concentració
(mg/mL)

☐ Altres (mètode no inclòs en l'Annex III del RD 53/2013). Descriviu-lo:

Aporteu proves científiques on es consideri que aquest mètode és almenys igual d'humanitari o justifiqueu científicament que la finalitat del procediment no es pot aconseguir utilitzant cap dels mètodes d'eutanàsia que preveu l'annex III del RD 53/2013.

Indiqueu el mètode de confirmació de l'eutanàsia dels animals que s'utilitzarà, d'acord amb el que estableix el punt 2 de l'Annex III del RD 53/2013 (el mètode proposat ha de ser diferent i complementari al mètode principal utilitzat).

☒	Confirmació del cessament permanent de la circulació
☐	Destrucció del cervell
☐	Luxació cervical
☐	Dessagnament

Altres mètodes de confirmació: descriure el mètode proposat i justificar la seva idoneïtat

☐ Mantenir els animals vius i reutilitzar-los (en aquest mateix procediment o en uns altres)

Descriviu i justifiqueu els límits i possibles efectes acumulatius en els animals

☐ Mantenir els animals vius, real·lotjar-los o donar-los en adopció.

Descriviu i justifiqueu la forma com es comprovarà que l'estat de salut de l'animal ho permet i que no suposa un perill per a la salut pública.

Mesures que heu pres per a salvaguardar el seu benestar

Descriviu el programa a seguir per a garantir la socialització de l'animal (si escau)

☐ Alliberar els animals silvestres en el seu hàbitat.

Descriviu el programa d'adaptació elaborat pel seu alliberament

14. Grau de severitat del procediment

Grau de severitat esperat

☐ Sense recuperació ☐ Lleu ☐ Moderat ☐ Sever

En el cas d'un procediment estimat com a sever:

Es preveu que els efectes siguin duradors? ☐ Sí - ☐ No

Justifiqueu la necessitat de la realització del procediment

Expliqueu com es preveu minimitzar el patiment o l'afectació del benestar dels animals

15. Lloc/s d'execució del procediment



Dades del/s centre/s usuaris o lloc/s geogràfics on es duren a terme fases del procediment

Número de registre

UTM: X

UTM: Y

telèfons

email

Coses que potser no sabíeu...

- Per aprovar un nou fàrmac/estratègia terapèutica, s'ha d'haver testat en 2 espècies animals.
- L'experimentació animal només es pot dur a terme a Espanya quan no hi ha alternatives.
- **Avantatges dels ratolins en estudis sobre el càncer**
 - altament similar a l'ésser humà, tant a escala genètica com anatòmica i fisiològica
 - mida petita, que facilita la seva manipulació i estabulació
 - cicle reproductiu curt (19-21 dies) i elevat nombre cries a cada camada (4-12)
 - permeten la generació de mutants per ingerència genètica (knock-outs), assaigs de fàrmacs, generació d'anticossos...
- **Bona alternativa: cultius 3D (organoids)**
 - recapitulen molt bé el tumor primari
 - permeten la generació de mutants per ingerència genètica (knock-outs), assaigs de fàrmacs...
 - limitacions amb els estudis d'interacció entre el tumor i el microambient
 - Difícil extrapolar als models *in vivo* abans d'arribar al pacient (recerca aplicada)

MOLTES
GRÀCIES!!

/ recordeu que sense ciència... no hi ha futur