

Estudi sobre el càncer de pròstata:



*Són necessaris
els animals
d'experimentació?*



Treball de
recerca
2017-18

Índex:

	Pàg.
■ Introducció	5
➤ Què és el càncer?.....	6
➤ Origen del càncer: La carcinogènesi.....	7
➔ Propagació del càncer en fase de progressió.....	9
➤ Classificació: Carcinoma.....	10
• Sarcoma.....	11
• Leucèmia.....	12
• Limfoma.....	13
➤ El càncer de pròstata.....	14
➤ Cures per el càncer de pròstata.....	16
▪ Tractament amb vacunes.....	17
➔ Les vacunes de DNA.....	18
➔ Transfecció i implantació del DNA (vacuna) al nucli cel·lular:	
1. Liposomes.....	19
➔ 2. Electroporació.....	20
➤ Experimentació animal.....	21
• El model animal.....	22
• El principi de les 3 R's.....	23
• AMM – Declaració de Helsinki.....	24
• Legislació Espanyola/Europea d'animals d'experimentació.....	25
• El Model Humanitzat/ "Nude Mouse"	26
➔ "Nude Mouse"	27
➤ Passos previs a l'experimentació amb animals.....	28
▪ El Comitè d'ètica/Comissió Ètica d'animals d'experimentació.....	29
A. 1) Memòria del projecte.....	30
A. 2) Memòria dels procediments.....	31
➔ Criteris de Punt final.....	32
A. 3) Informe del comitè ètic d'experimentació animal del centre.....	33
A. 4) Resum no tècnic.....	34

■ Pràctica.....	35
➔ Documents – Comitè d’ètica -Primer i segon document.....	36
- Tercer document.....	37
- Quart document.....	38
➔ L’entrada a l’estabulari (1, 2, 3).....	39
4. El vestidor.....	40
5. L’equip de l’estabulari (sala d’experimentació).....	41
• Cabina de flux laminar.....	42
• Màquina d’anestèsia.....	43
• Electroporador.....	44
➤ Mètode experimental basat en la investigació (1, 2 ,3).....	45
4. Experimentació.....	46
5. Disseny de l’experiment.....	49
5.1. Control – 5.2. Rèplica.....	53
6. Resultats de l’experimentació.....	54
• Eutanàsia dels ratolins.....	57
7. Conclusions de l’estudi.....	60
■ Entrevista.....	62
■ Conclusió.....	64
■ Annexos.....	66
■ Bibliografia – webgrafia.....	68
■ Agraïments.....	70

Abstract:

This project reports on two topics.

The first topic is about cancer and the different types of cancer that exist. After the introduction to know about cancer that is done in this project, it is emphasized with prostate cancer and it is explained how it is and the treatments that are currently used.

The second topic is about the importance of experimentation animals when doing research, for example, for a new treatment of prostate cancer. But a certain process must be carried out in order to start an investigation. Here, it is explained the process that must be done before beginning an experimentation, the processes that must be followed during the study and what is done after finishing the investigation.

Presentació:

Vaig decidir fer aquest tema per el meu Treball de Recerca perquè m'agrada tot el que està relacionat amb els animals i la biologia, ja que trobo que són temes molt interessants i importants per entendre realment què som i d'on venim i també perquè crec que s'ha de donar especial importància a la natura ja que gràcies a ella és possible la vida i per últim, perquè vull estudiar i dedicar-me a la veterinària. Des del moment en el que em van dir que havia de fer el treball de Recerca vaig tenir clar que seria de biologia. Després, el meu tutor del treball em va parlar sobre el projecte Argó que porta la UAB, projecte en el qual la universitat ofereix uns certs temes per a fer el Treball de Recerca i s'encarreguen de que t'assessorin en el treball especialistes en el tema que s'elegeix. A més a més, es té accés a informació privilegiada i a una part pràctica més desenvolupada i rica. El meu tutor em va animar a que mires el tema i que em presentes com a voluntària. Vaig veure que hi havia un tema de veterinària que tractava la discussió actual que hi ha en la utilització d'animals d'experimentació. Tema el qual trobo molt interessant ja que tindria la possibilitat d'informar-me dels dos punts de vista, els dels investigadors i els dels defensors dels drets animals i així poder arribar jo a la meva pròpia conclusió després d'haver conegut els dos punts de vista i les seves respectives premisses.

Introducció:

Una de les malalties més antiga i mortífera que ha existit a la Terra ha sigut i és el càncer.

El càncer ha estat present sempre en les nostres vides, d'una manera més o menys propera. Aquesta malaltia afecta tant a persones com animals i es pot manifestar a qualsevol edat i es poden presentar més de cent tipus diferents de càncer, uns més mortífers que d'altres.

El càncer és una de les primeres causes de mort mundial i aquesta malaltia va afectar aproximadament a més de 32 milions de persones en el món, l'any 2016, i 8,2 milions van morir de càncer.

Un dels càncers més comuns és el de pròstata, que el pateixen més d'un milió d'homes cada any i del qual encara no s'ha trobat una cura eficaç del tot.

Gràcies a la medicina moderna i la investigació biomèdica ha augmentat la qualitat i l'esperança de vida dels afectats i també s'han pogut fer avanços importants per arribar a possibles cures per al càncer. Per poder seguir avançant s'ha de seguir experimentant, però es va crear una llei (Declaració de Helsinki, 1944), on es dicta que abans de provar un tractament mèdic amb humans, primer s'ha de fer amb animals, per la seguretat dels primers. I és aquí on entra en joc el paper dels animals d'experimentació.

Aquest treball tractarà els diferents tipus de càncer concretant amb el càncer de pròstata ja que gràcies al Projecte Argó de la UAB vaig poder assistir a una investigació real per al desenvolupament d'un tractament per al càncer de pròstata.

Per un altre costat, el treball també tractarà el tema de la legislació que defensa els animals d'experimentació. La **hipòtesi** principal del treball era: Potser l'ús dels animals d'experimentació no és ètic. Tenia aquesta hipòtesi perquè pensava que no hi havia cap llei que regulava l'experimentació animal i els animals patien de manera innecessària.

Els **objectius** del treball són comprovar segons la meva experiència viscuda en la investigació si realment es compleix o no la meva hipòtesi i arribar a una conclusió raonada respecte la meva pregunta.

Són realment necessaris els animals d'experimentació?

➤ Què és el càncer?

Tots els éssers vius estem formats per una o més cèl·lules.

Aquestes cèl·lules es divideixen contínuament i de forma regular per reemplaçar a les cèl·lules que ja són mortes o velles perquè ja no compleixen les seves funcions. Així es manté la integritat i un funcionament correcte de tots els òrgans.

El procés de divisió de les cèl·lules està regulat per uns mecanismes que indiquen a la cèl·lula quan ha de començar a dividir-se i quan no. Quan es produeix un dany en el DNA d'una cèl·lula que no pot ser reparat, es porta a terme l'autodestrucció d'aquesta cèl·lula; aquest procés també s'anomena mort cel·lular programada o **apoptosi**.

Per tant, el **càncer** és un tipus de malaltia que afecta als éssers pluricel·lulars en que un grup de cèl·lules desenvolupa un creixement descontrolat i es multiplica el nombre de divisions cel·lulars normals perquè per un dany cel·lular no es porta a terme la apoptosi. Aquestes cèl·lules envaeixen i destrueixen teixits i a vegades hi ha una metàstasi, que es dona quan les cèl·lules cancerígenes s'estenen a altres punts del cos a través de la limfa o la sang, creant altres tumors.

Aquestes tres propietats (creixement cel·lular descontrolat, invasió/destrucció de teixits/òrgans i metàstasi) són les que defineixen a un tumor maligne.

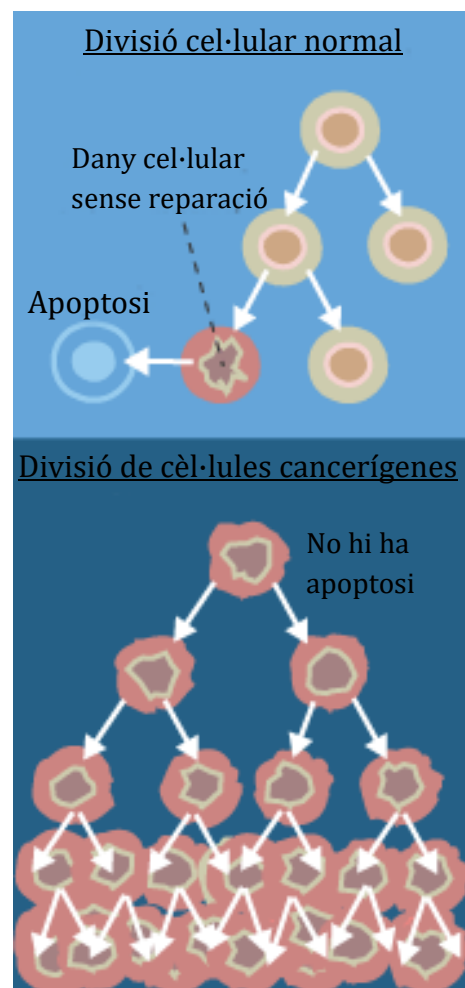
També existeixen els tumors benignes que tenen la manca de metàstasi, alguns poden ser perjudicials per a la salut i ni ha d'altres que no. (berrugues)

La majoria de càncers formen un tumor, però alguns no ho fan, com per exemple, la leucèmia.

El càncer pot afectar a animals, a plantes i a humans, es pot patir a qualsevol edat i fins hi tot, pot afectar als fetus. El risc de patir càncer augmenta amb l'edat.

Avui en dia es poden trobar més de cent tipus de càncer.

La branca de la medicina que s'ocupa de l'estudi, el diagnòstic, el tractament i la prevenció del càncer és l'oncologia.



➤ Origen del càncer:

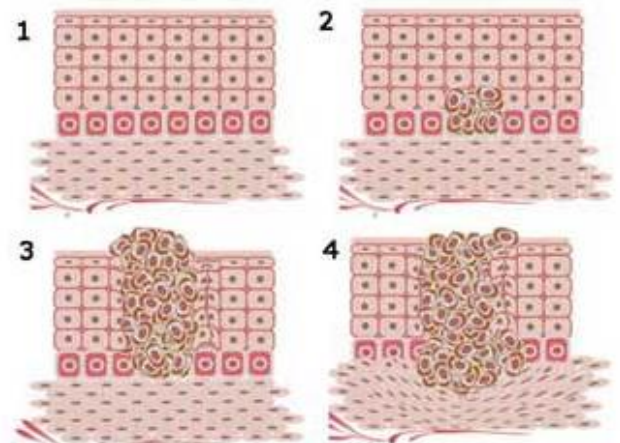
Gairebé tots els càncers són provocats per anormalitats en el material genètic de les cèl·lules afectades. Aquestes anormalitats solen ser degudes als **carcinògens**, que són agents físics (radiacions), químics o biològics potencialment capaços de produir càncer al exposar-se a teixits vius, com per exemple: el fum de tabac, radiacions, substàncies químiques, etc... Altres anormalitats genètiques que provoquen càncer es poden adquirir aleatòriament per culpa d'errors en la replicació de l'ADN, o són heretades dels progenitors, i per tant estan presents a totes les cèl·lules del nou individu des del naixement.



Una vegada una cèl·lula presenti anomalies en el seu material genètic, aquesta adquirirà la capacitat de multiplicar-se descontroladament i d'envair teixits i altres òrgans. Aquest procés es denominarà **carcinogènesi**.

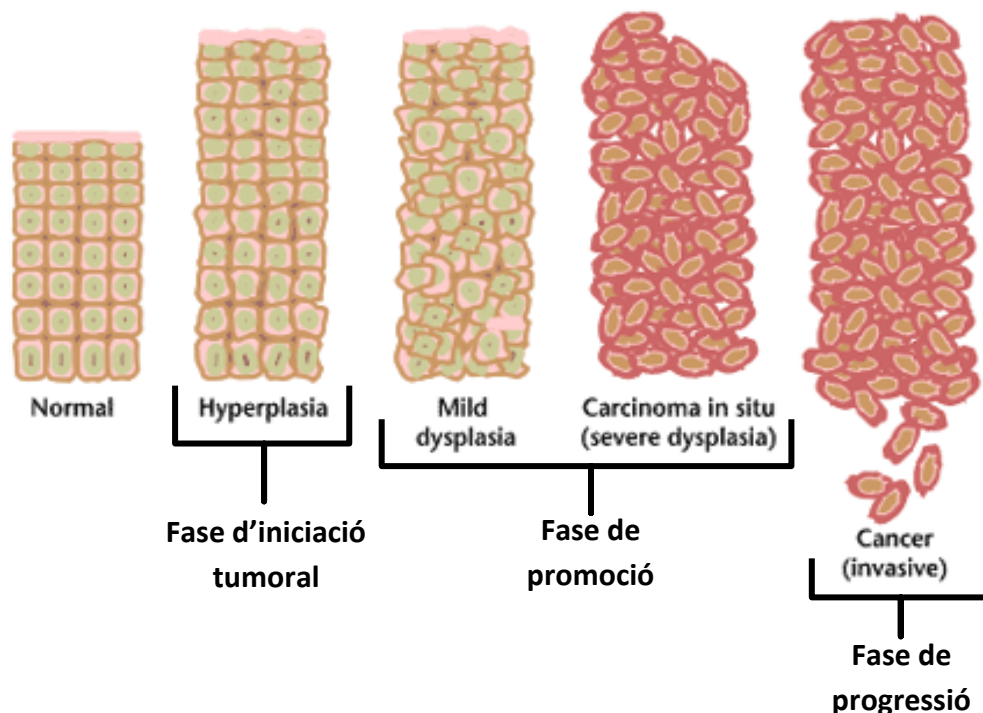
❖ La **carcinogènesi** pot durar anys i passa per diferents fases:

- La **primera fase** comença amb la mutació de la primera cèl·lula, succeeix a nivell del genoma i les alteracions poden trobar-se tant en tumors benignes com en malignes. Una sola mutació no és suficient per a que es generi un càncer, però aquesta cèl·lula mutada és la que pot iniciar el procés. La condició més important per a l'evolució d'un càncer és que la cèl·lula mutada sigui capaç de dividir-se. Una vegada aquesta primera cèl·lula es divideix, com a resultat, les cèl·lules filles mutades comencen a multiplicar-se a una velocitat superior a la normal, transmetent als seus descendents l'anomalia genètica de la cèl·lula mare.



➔ Aquesta fase s'anomena: ***fase d'iniciació tumoral*** i les cèl·lules involucrades en aquesta fase es diuen ***cèl·lules iniciades***. L'alteració que han produït les cèl·lules iniciades és irreversible, però és insuficient per desenvolupar un càncer.

- La segona fase comença quan els agents carcinògens actuen de nou i repetidament sobre les *cèl·lules iniciades*. Aquest fet provoca que la divisió cel·lular sigui més ràpida encara i com a conseqüència, es multipliquin cèl·lules mutades amb més probabilitat de que es produeixin noves mutacions. Així, comença la creació d'un tumor i també pot passar tan en tumors malignes com de benignes.
- ➔ Aquesta fase es coneix com: **la fase de promoció** i les cèl·lules que hi participen s'anomenen **cèl·lules promocionades**. Alguns factors que actuen en aquesta fase serien el tabac, la mala alimentació, beure alcohol, etc.
- La tercera fase s'inicia quan les *cèl·lules iniciades* i les *promocionades* pateixen noves mutacions per culpa de carcinògens i les divisions descontrolades entre cèl·lules cada vegada més mutades. Cada vegada hi ha més anomalies en el seu codi genètic, en el seu creixement i en el seu comportament com a cèl·lula. Aquesta tercera fase només es pateix si es tracta d'un tumor maligne.
- ➔ Aquesta fase s'anomena **fase de progressió** ja que les cèl·lules adquireixen la capacitat d'**invasió**, infiltrant-se en teixits propers o en d'altres situats a certa distancia, viatjant a través del sistema sanguini o limfàtic, provocant així les metàstasis.



➔ Propagació del càncer en fase de progressió:

Els càncers són capaços de propagar-se per el cos a partir de dos mecanismes: *invasió i metàstasi*.

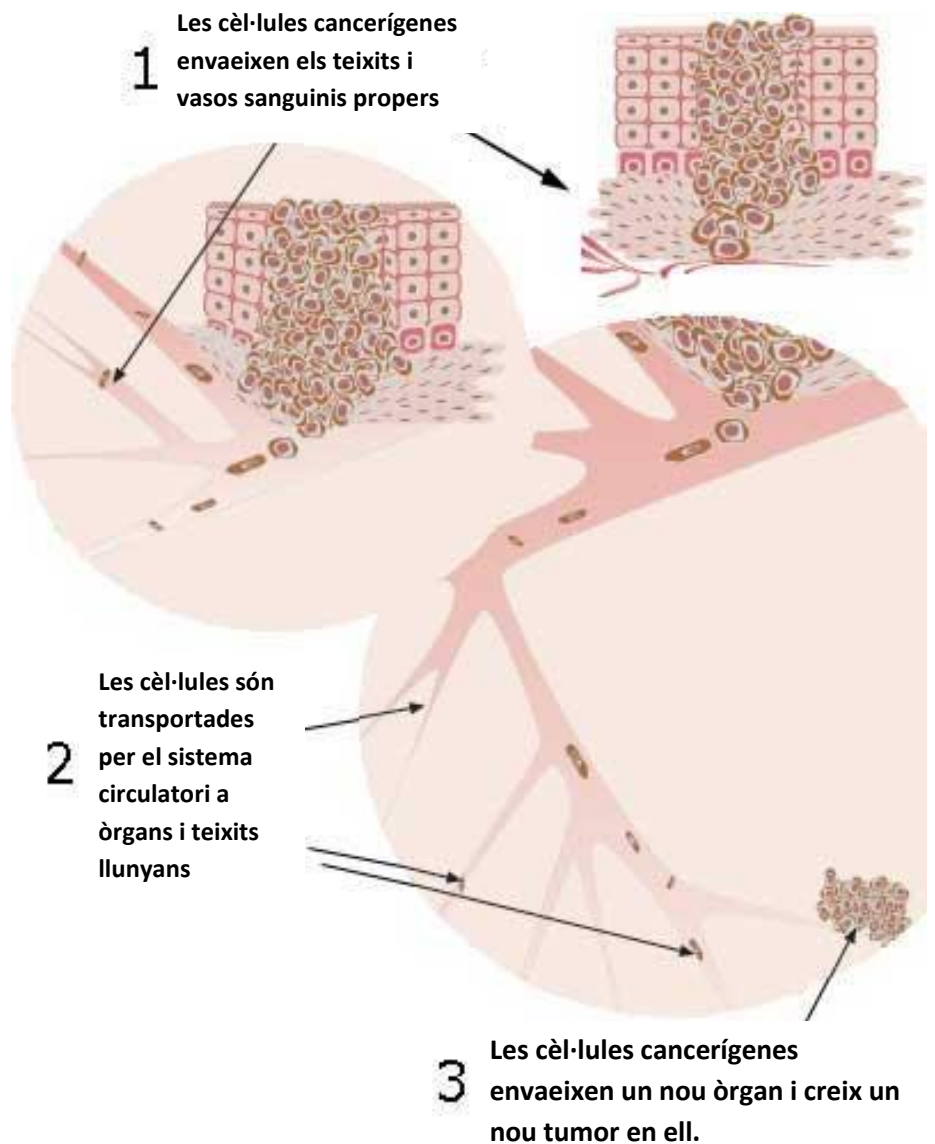
***L' invasió** és la migració i la penetració directa de les cèl·lules mutades en teixits o òrgans propers al tumor d'origen.

***La metàstasi** és el procés de propagació d'un tumor cancerigen a un altre òrgan diferent al que es va iniciar. Succeeix per mitjà dels vasos sanguinis o limfàtics.

Primer algunes de les cèl·lules malignes se separen del tumor inicial i a continuació penetren el vasos sanguinis o limfàtics, viatgen a través de la circulació sanguínia i finalment creixen i es divideixen en un nou teixit o òrgan creant un nou tumor maligne.

El nou tumor metastàtic és del mateix tipus de càncer que el del tumor d'origen.

La metàstasi és la causa principal de mort d'un ésser viu amb càncer.



➤ Classificació:

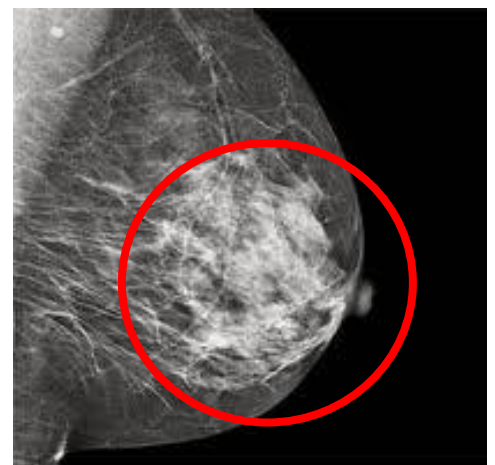
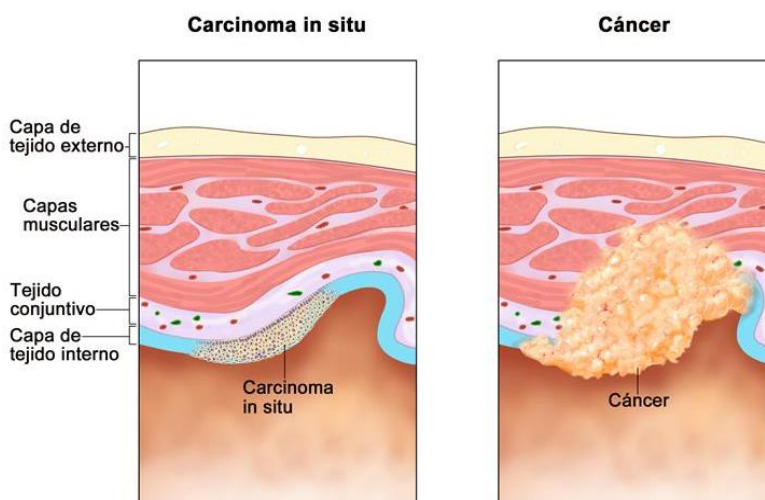
Els càncers es classifiquen segons la histologia (l'estructura i les característiques dels teixits) i la ubicació del teixit on es troba el tumor.

- **Carcinoma:** És el tipus de càncer més comú, el 80% de càncers són carcinomes. Aquest càncer comença a la **pell** o als teixits que cobreixen els òrgans interns (**cèl·lules epitelials**).

Algunes d'aquestes cèl·lules tenen diferents característiques i per aquest motiu tenen un nom especial. Les més importants són:

- Adenocarcinoma: càncer del teixit glandular (mames, pròstata).
- Carcinoma de cèl·lules escamoses: càncer de les cèl·lules no glandulars (esòfag, coll del úter)
- Carcinoma de cèl·lules basals (Basalioma): avarca un 78% de tots els càncers, càncer de pell més comú. Rarament produeix metàstasi.
- Melanoma: càncer de les cèl·lules que produeixen la coloració de la pell, és el més perillós per què porta a terme la metàstasi.

Els càncers de tipus carcinoma més comuns són el càncer de pit, de pròstata, de pulmó i de còlon.



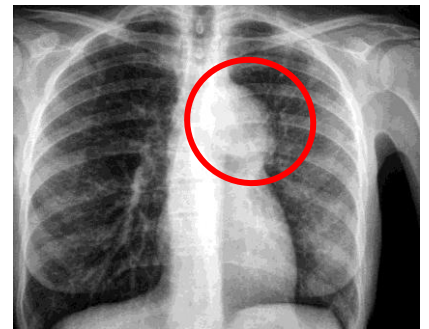
- **Sarcoma:** Aquest tipus de càncer comença en els teixits connectius com els cartílags, el greix, els músculs, els vasos sanguinis, els ossos, etc. Dependent de la cèl·lula on s'origina el càncer es poden diferenciar amb diferents noms, els més comuns són els següents:

- Osteosarcoma: Càncer que deriva de l'os. Sol aparèixer en ossos llargs. És el sarcoma més freqüent i és el vuitè càncer infantil més freqüent.



- Liposarcoma: Càncer que té origen en el greix (teixit adipós). Sol apareixerà en les extremitats inferiors, braços pit i coll.

- Condrosarcoma: L'origen del tumor es troba en els cartílags. És el segon tipus de sarcoma més comú. Els tumors solen estar en les costelles, la pelvis, el fèmur i l'húmer.

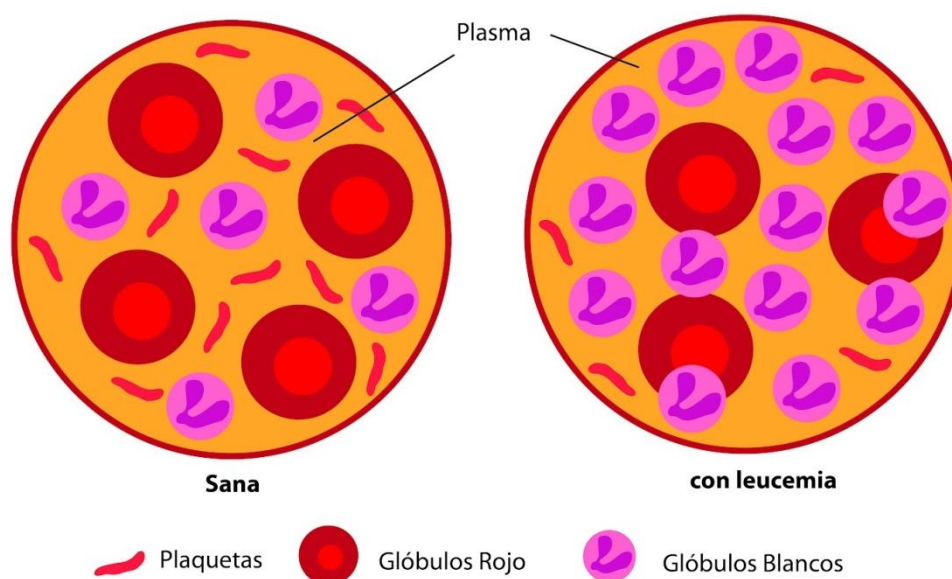


- Angiosarcoma: Sarcoma que deriva dels vasos sanguinis o limfàtics de qualsevol teixit d'un organisme.

- **Leucèmia:** Es coneix com el càncer de sang, aquest càncer comença en els teixits que formen la sang, com la medul·la òssia. Aquesta anomalia provoca un augment descontrolat de glòbuls blancs (cèl·lules que es troben en la sang i són les responsables de les respostes immunes). Les cèl·lules cancerígenes impedeixen que es produeixin glòbuls vermells, plaquetes (encarregades de tancar ferides) i glòbuls blancs madurs normals. És el càncer diagnosticat més freqüentment en nens. Aquest càncer es va tornant cada vegada més mortal a mesura que disminueixen les cèl·lules sanguínies normals. Les cèl·lules mutades es poden propagar al torrent sanguini i també poden viatjar al cervell, a la medul·la espinal i altres parts del cos.
-En les leucèmies hi ha carència de tumoració, s'afecta la sang i la medul·la òssia.

➔ La leucèmia es pot classificar en diferents tipus:

- Segons el tipus de funció de la cèl·lula alterada:
 - ◆ *Leucèmia mieloide.*
 - ◆ *Leucèmia limfoide.*
- Segons l'estat de maduració de les cèl·lules leucèmiques:
 - ◆ Aguda: cèl·lules immadures. Aquestes no realitzen les funcions
 - ◆ Crònica: es produeixen masses glòbuls blancs madurs però són anormals. La seva progressió és més lenta.



- **Limfoma:** Aquest càncer comença a les cèl·lules del sistema limfàtic (sistema que té com a funció combatre infeccions i malalties i forma part del sistema immunitari). El sistema limfàtic transporta en els vasos limfàtics (semblants als sanguinis) un líquid anomenat *Limfa*. La *limfa* conté limfòcits, (que són un tipus de glòbuls blancs). Les cèl·lules afectades, en aquest cas, són els glòbuls blancs i degut a que el sistema limfàtic es troba per tot el cos, el limfoma es pot presentar a gairebé qualsevol part de cos. Aquest tipus de càncer es pot presentar tant en nens com en adults.

-Hi ha dos tipus de limfomes:

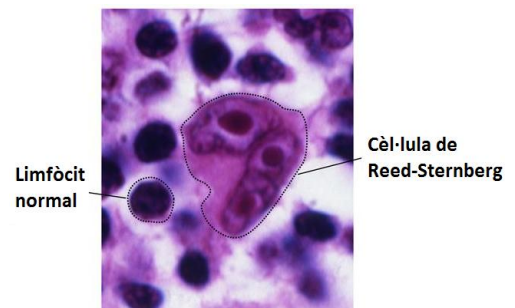
- El limfoma de Hodgkin
- El limfoma de NO Hodgkin

-Els dos tipus de limfoma es poden diferenciar a partir de les diverses característiques de les cèl·lules malignes (que abans eren limfòcits). Característiques com, per exemple, el seu comportament, la seva propagació i la seva resposta al tractament.

El limfoma de NO Hodgkin és el tipus més comú.

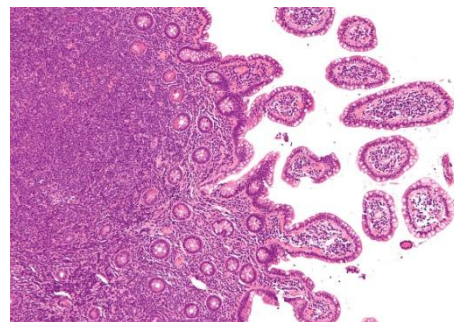
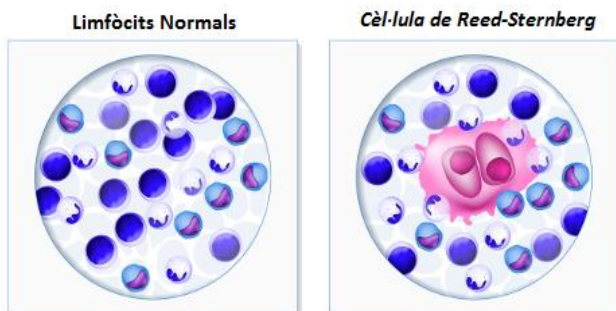
El tipus de limfoma es determina amb la biòpsia i l' examen de les cèl·lules cancerígenes amb un microscopi per observar de quin tipus són les cèl·lules que han mutat.

Quan s'observen les cèl·lules cancerígenes i aquestes són un tipus de cèl·lules anomenades "*Cèl·lules de Reed-Sternberg*" (*cèl·lules gegants malignes que inicialment eren limfòcits de tipus B*), el limfoma és de tipus Limfoma Hodgkin.



Quan aquestes cèl·lules no es troben presents, el càncer es classifica com a Limfoma de NO Hodgkin.

Limfoma de Hodgkin

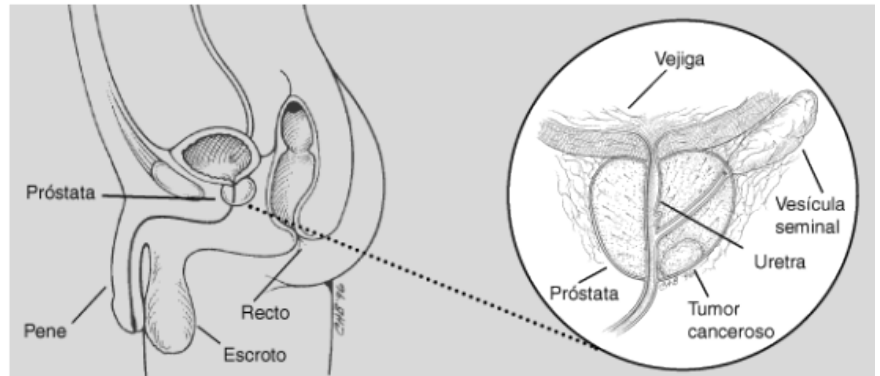


"Cèl·lules Limfoma de NO Hodgkin."

➤ *El càncer de pròstata:*

La *pròstata* és una glàndula sexual que només presenta el sexe masculí, aquesta glàndula és l'encarregada d'elaborar un líquid que forma part del semen.

La pròstata es troba sota de la bufeta i envolta la uretra.



El càncer de pròstata, a nivell mundial, és el segon càncer més diagnosticat en homes després del càncer de pell, però, en Europa des de fa uns anys, el càncer de pròstata s'ha convertit en el primer càncer més diagnosticat. A més a més és una de les primeres causes de mort en homes.

- ➔ El càncer de pròstata comença quan algunes cèl·lules prostàtiques de la pròstata muten i comencen a multiplicar-se descontroladament. Encara no se sap què és el que causa aquest càncer però sí es coneixen alguns factors a tenir en compte per al desenvolupament d'aquest càncer, com la genètica i la dieta. Les cèl·lules mutades poden fer metàstasi, especialment als ossos.

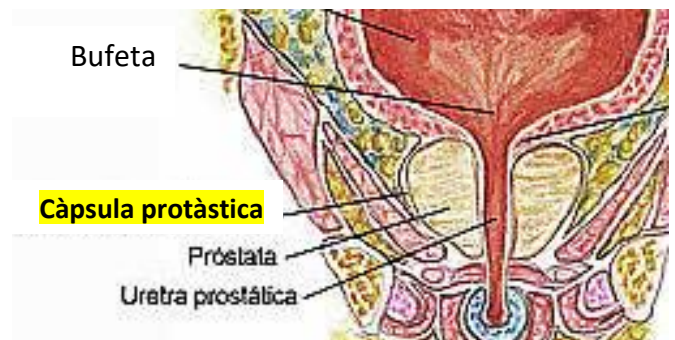
El càncer de pròstata afecta més freqüentment a homes d'uns cinquanta anys.

El creixement tumoral és moderadament lent hi encara havent-t'hi hagut metàstasi hi pot haver una supervivència prolongada.

- El tumor maligne pot créixer de tres maneres:

- **Creixement local:** Es produeix per el creixement del tumor cancerigen que envaeix la càpsula prostàtica.

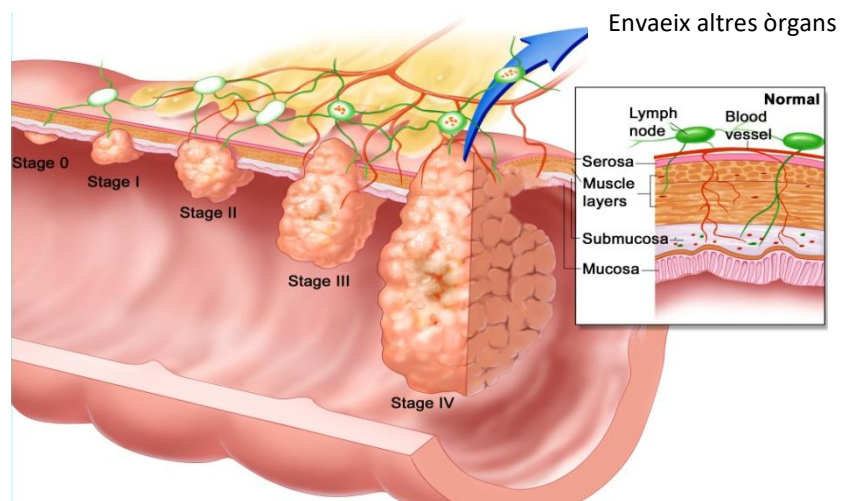
Més tard el tumor és capaç de trencar la capa prostàtica degut la seva mida i així el tumor segueix creixent envaint altres teixits i òrgans propers a la pròstata. Que les cèl·lules mutades envaeixin la bufeta i el recte és un procés lent.



- **Disseminació limfàtica:** es dona quan es produeix la invasió dels capil·lars limfàtics

per les cèl·lules tumorals i aquestes es propaguen per la resta de l'organisme a través del sistema limfàtic.

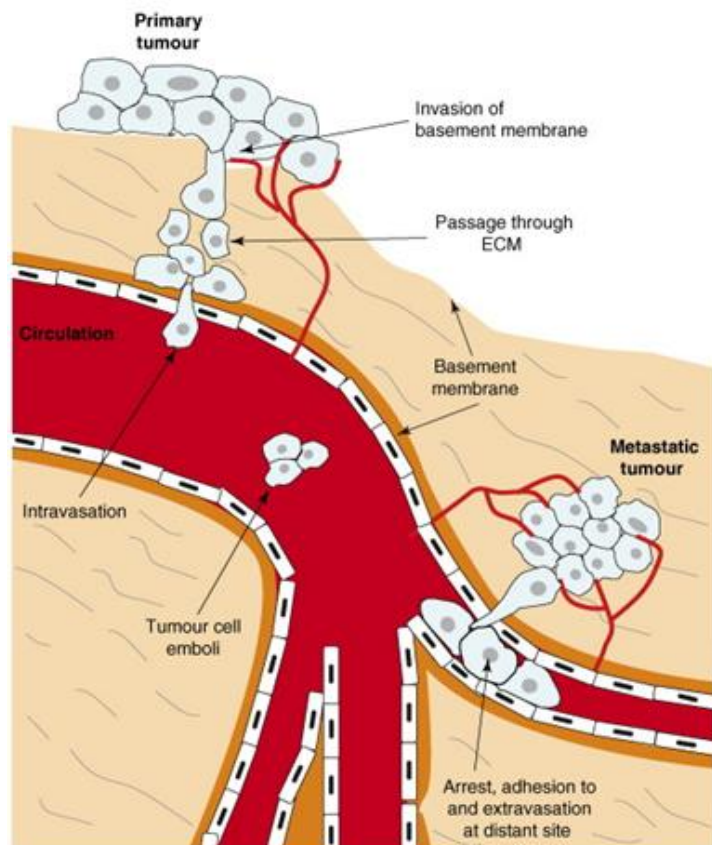
La freqüència amb que es produeixi una disseminació limfàtica té relació directa amb la mida del tumor inicial i el grau de malignitat.



- **Disseminació hematògena/hemàtica:** Aquesta disseminació comença quan les

cèl·lules mutades entren en contacte amb els vasos sanguinis, traspassen la paret del vas sanguini i les cèl·lules comencen a viatjar per el sistema sanguini i aquestes envaeixen altres teixits o òrgans. En el cas del càncer de pròstata, el teixit ossi és el més afectat per les cèl·lules tumorals.

És la via de propagació més important per a la majoria de tumors malignes.



➤ *Cures per el càncer de pròstata:*

Com ja s'ha citat anteriorment, el càncer de pròstata encara no té una cura eficaç del tot i actualment les cures només allarguen la vida de l'afectat.

Segons l'etapa del càncer, l'estadi, la situació i altres factors, són més recomanables alguns tractaments que altres.

Els possibles tractaments són els següents:

- *L'espera en observació i la vigilància activa:* Aquest tractament s'utilitza amb homes amb una avançada edat i problemes de salut greus, ja que normalment en aquestes situacions, el càncer no els mata gràcies al seu lent desenvolupament. Consisteix en controlar i observar l'estat del càncer amb proves de sang i biòpsies de la pròstata.
[Annex 1]
- *La cirurgia:* És una de les opcions més comunes si es creu que no hi ha presència de metàstasi cap a altres teixits i òrgans. Consisteix en l'extirpació total de la pròstata i les vesícules seminals.
[Annex 2]
- *La Radioteràpia:* En aquest tractament s'utilitzen rajos d'alta energia per així disminuir el nombre de cèl·lules cancerígenes.
[Annex 3]
- *Crioteràpia:* Utilitza temperatures molt fredes per a congelar i eliminar les cèl·lules cancerígenes que es troben a la pròstata.
[Annex 4]
- *Teràpia hormonal:* Aquesta teràpia té com a objectiu el reduir el nivell de les hormones masculines, anomenades andrògens, i així evitar que aquestes hormones afectin a les cèl·lules cancerígenes, ja que els andrògens estimulen al creixement de cèl·lules cancerígenes de la pròstata.
[Annex 5]
- *Quimioteràpia:* Consisteix en utilitzar medicaments contra el càncer que s'injecten a partir de via intravenosa o oral. Aquests medicaments entren al torrent sanguini i per aquesta raó, aquest tractament és bastant eficaç per als càncers que ja s'han propagat a altres òrgans.
[Annex 6]

▪ Tractament amb vacunes:

Primer, fer un incís per explicar que és **una vacuna**.

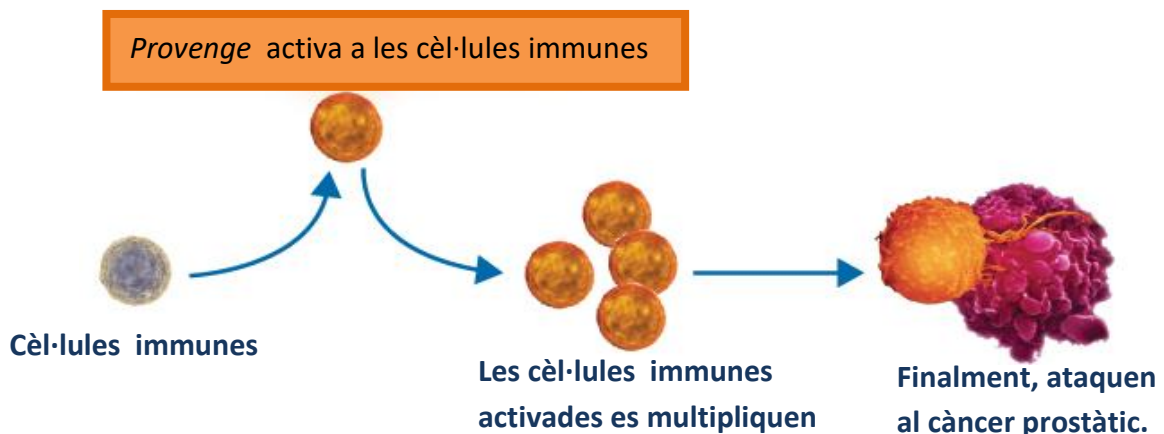
- Una vacuna és una medicina que conté una substància composta per microorganismes atenuats, morts o derivats d'aquests microorganismes. Aquesta substància sol ser injectada per via intravenosa per arribar a l'organisme i així prevenir algunes malalties infeccioses. Al entrar aquesta substància en contacte amb l'organisme, aquest últim, activa els anticossos del nostre sistema immunitari per poder desfer-se de la infecció. Després, el sistema immune es torna immune a aquesta infecció, ja que si el sistema immunitari torna a estar en contacte amb aquests microorganismes, els nostres anticossos ja sabran com actuar per eliminar-los del nostre organisme.

➔ Les **vacunes contra el càncer** estan compostes per modificadors de resposta biològica. Aquests modificadors de resposta fan que s'activi el sistema immunitari per a que estimuli o es restauri l'habilitat per combatre malalties.

Hi ha dos tipus de vacunes contra el càncer:

- ♦ Vacunes preventives: les quals intenten impedir que es presenti el càncer en gent sana.
- ♦ Vacunes de tractament: aquestes vacunes han de tractar un càncer ja existent, i reforçar la resposta immunitària natural del cos per a que així els anticossos puguin atacar el càncer.

✚ La primera i única vacuna de tractament per al càncer de pròstata que va ser aprovada per la FBA (Administració de Aliments i Medicaments), va ser la *Provenge (sipuleucel-T)* l'any 2010. Aquesta vacuna reforça al sistema immunitari per ajudar-lo a atacar les cèl·lules cancerígenes de la pròstata. La vacuna està aprovada per a utilitzar-se amb alguns homes amb càncer metastàtic de pròstata.



→ Les vacunes DNA:

Per començar, què és una vacuna de DNA?

Una vacuna DNA és un tipus de vacuna que va ser desenvolupada fa relativament poc, més concretament, a prop de l'any 1990.

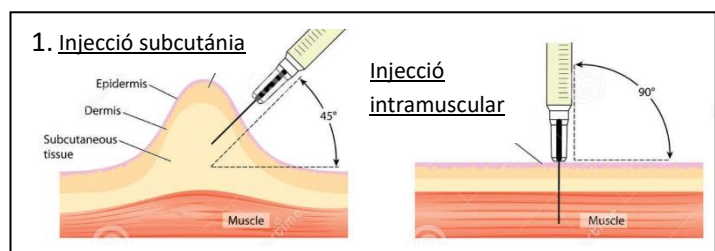
La vacuna conté DNA modificat genèticament per a que al començament, una petita quantitat de les cèl·lules d'un ésser viu tinguin accés a aquest DNA i les cèl·lules siguin capaces de produir els nous "productes" dels quals informen els gens del DNA injectat. La informació del DNA és codificada i traduïda i es produiran unes proteïnes antigens d'interès que fan possible l'activació d'una resposta immune per part de les cèl·lules sanes que atacaran directament al tumor maligne.

Les vacunes de DNA tenen importants avantatges sobre les vacunes convencionals, com ara la capacitat d'obtenir més tipus de respostes immunes, també es perd el risc de patir la malaltia que provoquen els microorganismes atenuats de les vacunes convencionals, ja que les vacunes de DNA només contenen el codi genètic que produeix antigens d'aquests microorganismes i són més ràpides i barates d'elaborar i transportar.

Actualment hi han diferents maneres d'administrar la vacuna de DNA:

1. **Injecció intramuscular o**

subcutània: La més habitual, s'injecta la vacuna amb una agulla que entrebasa la pell o el múscul, segons la situació.



2. **Pistola de gens:** És un tipus de pistola que amb heli dispara DNA a les cèl·lules de plantes i animals.

3. **Injecció Jet:** És un tipus de xeringa que utilitza alta pressió per penetrar la pell amb la vacuna, substituint la agulla.



→ Transfecció i implantació del DNA (vacuna) al nucli cel·lular:

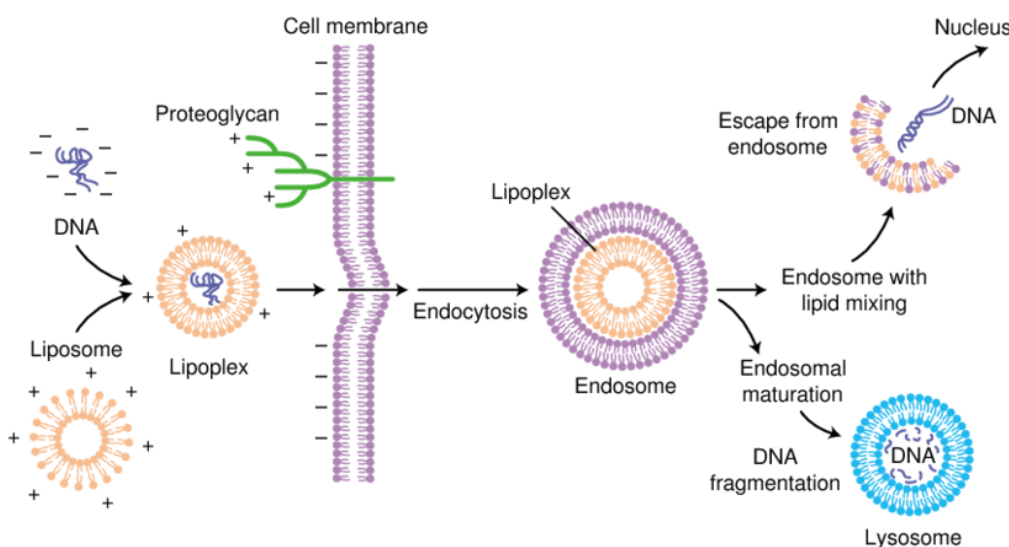
Actualment encara no hi ha molta informació sobre com s'implanta i s'expressa el DNA després de ser injectat als teixits (mitjançant les possibles alternatives esmentades a la pàgina anterior).

La **transfecció** consisteix en la introducció de material genètic extern en cèl·lules eucariotes. [Annex 7]

-Hi ha dues maneres per fer més efectiva la transfecció i implantació del DNA a les cèl·lules:

1. A partir de **Liposomes**: Un liposoma és una vesícula amb forma d'esfera que té com a membrana una bicapa lipídica (semblant a la membrana cel·lular) composta per fosfolípids (un tipus de lípid) i colesterol. Aquests liposomes són capaços de transportar petites substàncies.
S'han desenvolupat tècniques per a que els liposomes serveixin com a transportadors dels gens que es volen implantar al nucli de les cèl·lules. Químicament s'insereixen els gens d'interès dins dels liposomes i s'introdueixen amb algun dels mètodes esmentats abans, però el lloc on s'introdueixen aquests liposomes té una funció molt important ja que se sap que només d'1 a 10% del total del DNA inoculat és implantat al nucli de les cèl·lules que interessen. (En tractaments per al càncer: cèl·lules del sistema immunitari).
- Una vegada s'han injectat els liposomes amb la informació genètica, aquests es fusionen amb la membrana plasmàtica, permetent així l'entrada dels gens dins la cèl·lula.
- Per aquesta raó les investigacions en les qual estudien les vacunes de DNA i la seva eficàcia contra el càncer obtenen millors resultats si les vacunes són injectades més d'una vegada.

[Annex 8]



El liposoma s'uneix químicament amb el DNA d'interès creant un *lipoplex*. Les estructures es fusionen amb la membrana cel·lular.

El liposoma és introduït per endocitosi (procés d'entrar a la cèl·lula passant per la membrana cel·lular) i es forma un endosoma unit amb un liposoma. Durant el procés de maduració de l'endosoma en un liposoma, la paret de l'endosoma es pot trencar, alliberant el DNA contingut al citoplasma i potencialment cap al nucli.

A vegades el DNA es degrada dins del liposoma.

2. L'electroporació:

- L' electroporació consisteix en provocar un augment significatiu de la conductivitat elèctrica i la permeabilitat de la membrana plasmàtica cel·lular mitjançant electricitat aplicada externament (normalment amb unes agulles que s'insereixen a la pell).

Segons el tipus de cèl·lula que es vol electroporar el voltatge de la descàrrega elèctrica varia.

En altres paraules, l'electroporació és un procés que es porta a terme utilitzant una màquina anomenada electroporador. Aquesta màquina s'encarrega d'obrir els porus que es troben en la membrana cel·lular de les cèl·lules per a que sigui més eficaç l'entrada d'algun tipus de substància molecular. Per provocar l'obertura d'aquests porus, l'electroporador provoca unes petites descàrregues elèctriques.

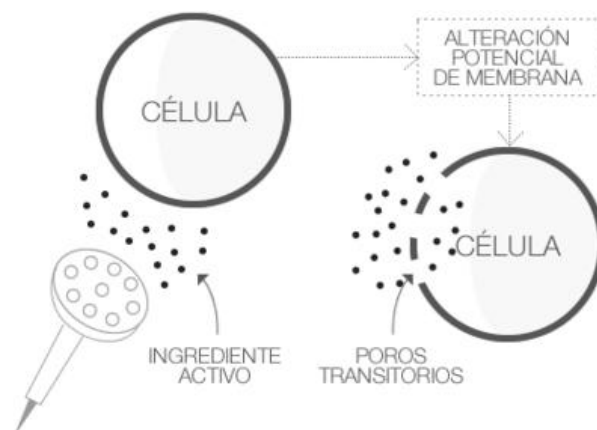
Si el voltatge de l'electricitat és l'adient provoca l'obertura temporal dels porus cel·lulars, però si no és l'adequada pot provocar l' apoptosi de les cèl·lules electroporades.

Aquest procés és habitual en biologia molecular i en investigacions biomèdiques per així poder introduir diferents substàncies en cèl·lules d'un animal o humà, com per exemple sondes moleculars, un fàrmac que pot canviar les funcions cel·lulars o un fragment de DNA.

- La **nucleofecció** és una variant de l'electroporació. La **nucleofecció** és un mètode de transfecció de DNA que el porta a terme una màquina anomenada "*Nucleofector*".

La nucleofecció fa la mateixa funció que la de l'electroporador però en comptes de provocar l'obertura dels porus de la membrana plasmàtica d'una cèl·lula, provoca l'**obertura dels porus** de la membrana del **nucli cel·lular**.

[Annex 9]



➤ *Experimentació animal:*

Des dels començaments de la vida humana, els animals han tingut un paper molt important per a la nostra evolució, ja que han ajudat a arribar a comprendre la nostra “creació” o com funciona el nostre cos des d’un punt de vista biològic.

L’experimentació amb animals actualment és una de les bases per a la investigació en el món de la medicina. Però aquestes pràctiques sempre han rebut una oposició per part del col·lectiu que està a favor dels drets animals, a l’igual que els dels humans, ja que els animals són sotmesos a processos dolorosos i/o estressants entre altres coses, trencant així el seu cicle vital i condemnant-los a una futura mort o una vida sense qualitat.

L’experimentació animal consisteix en practicar diversos experiments que poden ser més o menys agressius amb animals, amb l’objectiu d’aconseguir noves dades sobre el que s’està investigant, desenvolupar noves teories, aprendre nous conceptes o simplement per treure algun benefici de profit per als humans, com nous medicaments.



“Campanya contra l’experimentació animal”

Aquests experiments comencen quan s’inicia la preparació del animal per a la seva utilització (**model animal/humanitzat**) i acaba quan s’aconsegueixen totes les observacions i resultats desitjats sobre l’animal/experiment.

L’experimentació amb animals aporta grans beneficis, ja que gràcies a aquests experiments s’han pogut fer molts avanços en la prevenció i tractament de moltes malalties. A més a més, la medicina ha pogut evolucionar molt ràpidament en poc temps augmentant així l’esperança de vida de l’ésser humà gràcies també a la possibilitat d’experimentar amb animals.

Actualment, l’experimentació animal segueix tenint un paper molt important i és útil en àmbits com:

- El comerç de l’alimentació i la producció agrícola.
- La sanitat humana i animal (medicines, oncologia...)
- La biotecnologia, neurologia, genètica, etc...

• El Model Animal:

Els models animals són una de les parts més importants i fonamentals de la biomedicina.

Abans de vendre qualsevol medicament sempre s'ha d'haver provat abans en un laboratori amb un model animal. Els models animals són utilitzats per investigar i entendre les causes, el diagnòstic i el tractament d'una malaltia.

→ Però què és un model animal?

-Un model animal es coneix com a qualsevol espècie no humana que s'utilitzi en la investigació biomèdica. És molt important que els models animals compleixin els requisits adequats, que estiguin sans i que no puguin patir cap malaltia biològica abans d'iniciar el procediments d'investigació. Per aquesta raó són criats en un medi controlat però que respecta el seu medi natural amb el compliment dels principis ètics de l'animal. Són vigilats i tractats amb molt de compte per a que no hi hagi possibilitat de malalties en els animals (per a que no afectin després al resultat de l'experiment on sigui utilitzat el model animal.)



L'espècie del model animal pot variar segons el tipus d'experiment que es vol fer o segons el tipus o quantitat de similitud que interessa que tingui el model animal amb l'ésser humà.

En els països més desenvolupats s'han creat estructures com “*L'organització Mundial de la Salut*” que protegeixen als animals d'experimentació, tant de tipus governamental com privat.

S'han creat lleis com la “Declaració de Helsinki” o “El principi de las tres R's” que regulen l'experimentació amb animals i pauten com han de ser aquests experiments per a que respectin els principis ètics.

A partir de 1940 es van anant creant diferents institucions relacionades amb la biomedicina i la veterinària, les quals han anat publicant guies conegudes internacionalment on es detallen les normes, principis i recomanacions per el cuidat i l'ús dels animals de la manera més humanitària possible.



“L'organització Mundial de la Salut” <logotip>

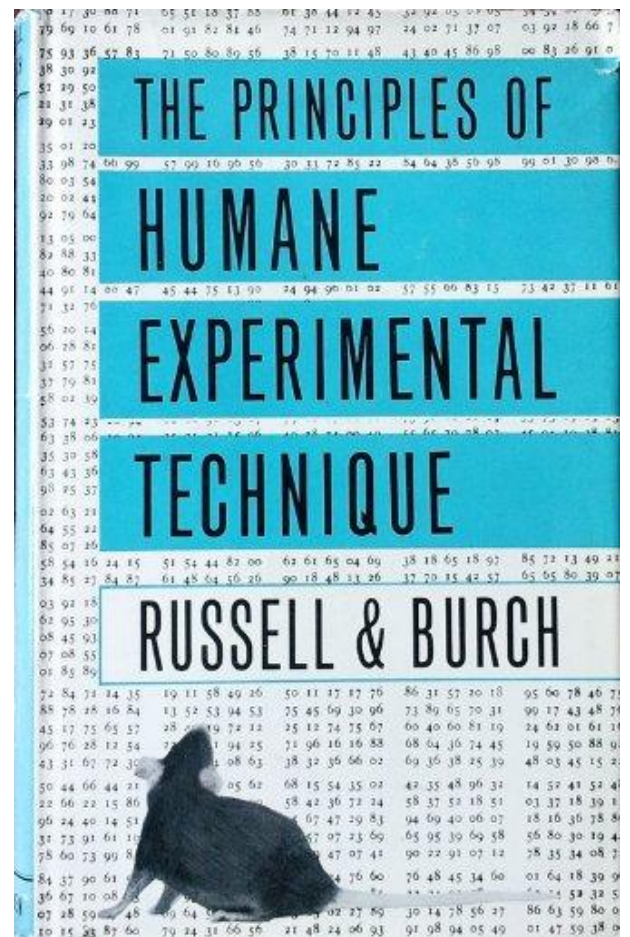
• El principi de las tres R's:

En 1959 William Russell (zoòleg i psicòleg) i Rex Burch (microbiòleg), en el seu famós llibre *"The principles of the humane animal experimental techniques"* van exposar el seu pensament sobre que l'excel·lència científica està lligada directament a l'ús humanitari dels animals d'experimentació. En el seu llibre defineixen clarament un principi ètic anomenat "El principi de les tres R's" on es diu que l'experimentació, per a que sigui ètica, s'ha de basar en tres fonaments: reduir, reemplaçar i refinar.

Aquests fonaments informen d'una manera de reduir l'ús dels animals d'experimentació i les causes de dolor i estrès.

➔ Fonaments del principi:

- **Reduir:** Els experiments que requereixen de l'ús de models animals han de ser realitzats amb el número mínim d'animals que permetin obtenir resultats vàlids científicament.
- **Reemplaçar:** L' utilització d'animals en laboratoris ha de ser sempre reemplaçada quan siguin possibles altres mètodes alternatius que no requereixen l'ús d'animals vius, com models matemàtics o simuladors.
- **Refinar:** Sempre s'han de portar a terme tots el procediments per a minimitzar i eliminar el dolor i patiment dels animals.
 - El disseny de l'experiment i la selecció del model que es decideixi ha de ser perfeccionat i el més adequat.
 - Qualitat de l'ambient on són criats i mantinguts els animals abans i durant l'experimentació.



• AMM- Declaració de Helsinki:

- ➔ L' AMM (Associació Mèdica Mundial) és una associació professional internacional de metges d'arreu del món. Aquesta va ser creada l'any 1947 i el seu objectiu és arribar a acords sobre l'ètica en la medicina i ajudar a la humanitat utilitzant els coneixements més avançats i els nivells més alts possibles de medicina i ètica mèdica.



La declaració de Helsinki va ser creada en l'any 1964 a Hèlsinki, Finlàndia, i ha sigut publicada de forma oficial per l' AMM. Des de llavors s'ha sotmès a cinc revisions que han fet que aquesta declaració presenti 37 principis bàsics per a que la medicina sigui ètica.

És un document amb molt de pes en la història de la investigació ètica, ja que regula la investigació en la medicina.

El seu principi bàsic és el respecte per l'individu i que el benestar del pacient ha d'estar per sobre dels interessos de la ciència.

Aquesta declaració, en un dels principis que numera, diu que la investigació en humans ha d'estar primerament basada en una experimentació animal per assegurar la seguretat dels primers, però també exigeix que es respecti el benestar dels animals utilitzats en la investigació.

Un altre principi és el que els animals empleats en investigacions biomèdiques han de rebre un tracte compassiu i que els investigadors han de complir totes les normes ètiques imposades per les lleis i declaracions (que s'han d'ensenyar a tots els investigadors en formació).

-A part de la "Declaració de Hèlsinki" l'AMM ha publicat de manera oficial altres declaracions com "La declaració sobre l'ús d'animals en l' investigació biomèdica."

[Annex 10]

- *Legislació espanyola/europea d'animals d'experimentació:*

- **Reial Decret 53-2013:**

És una norma jurídica de caràcter general decidida per el Consell de Ministres.

Aquest document estableix les normes bàsiques aplicables per a la protecció dels animals utilitzats en experimentació i altres fins científics, incloent la docència, regula, entre d'altres, l'avaluació i autorització de projectes en els procediments on s'utilitzin animals.

El Reial Decret només transposa la Directiva Europea 2010/63 / UE sobre benestar animal.

[Annex 11]

- **Directiva 76/768/CEE:**

És una llei que estableix l'eliminació gradual dels assaigs amb animals per a l'elaboració de cosmètics.

- Prohibeix experimentar amb animals tant per productes cosmètics acabats com els seus ingredients.
- Prohibeix la comercialització de productes cosmètics acabats experimentats en animals o que continguin ingredients experimentats en animals.

[Annex 12]



• *El Model Humanitzat/“Nude mouse”:*

- En una investigació quan es vol investigar sobre l'efecte que tindrà un tractament d'una determinada malaltia amb un model animal serà necessari trasplantar cèl·lules humanes al model animal que s'utilitzi (normalment ratolins). Però si aquest procés es porta a terme, el sistema immune del model animal provocaria un rebuig cap a les cèl·lules humanes i per tant no serviria de res haver-hi implantat les cèl·lules humanes al model animal. Per aquesta raó el model animal ha de ser immunodeprimit, és a dir, se l'ha de “desactivar” el seu sistema immune per a que no reconegui a les cèl·lules humanes com estranyes.

→ Model Humanitzat:

Els models humanitzats són els models animals transgènics, és a dir, són animals que s'utilitzen per a l'experimentació humana però a aquests se'ls implanta determinats gens, cèl·lules, teixits i/o òrgans humans per l'aprofitament humà.

Aquest fet és possible gràcies a que els animals han sigut prèviament modificats per a que siguin immunodeficients i no rebutgin els òrgans humans.

La implantació de gens humans als models animals fa que siguin capaços de produir proteïnes humanes que poden ser beneficioses per crear medicaments o fins i tot per a que els animals pugin donar els seus òrgans a humans.

Però encara que els animals que són modificats genèticament també es consideren humanitzats, lo més normal al parlar d'animals humanitzats és referir-se als animals els quals se'ls introdueixen cèl·lules del sistema immune humanes per a que el sistema immune dels animals respongui com respondria un humà.



“Exemple de ratolí humanitzat: ratolí amb un òrgan humà.”

→ “Nude Mouse”:

Un ratolí conegut com a “Nude Mouse” és un tipus de ratolí que presenta un tipus de mutació la qual provoca que aquests tipus de ratolins siguin immunodeficients degut al seu reduït nombre de glòbuls blancs i per aquesta raó i perquè no presenten pel en la pell se’ls coneix com ratolins nus.

Aquests ratolins són molt importants per les investigacions ja que poden rebre molts tipus de cèl·lules humanes ja que no provoquen cap resposta de rebuig per part del seu sistema immunològic.

Aquests ratolins s’utilitzen especialment en les investigacions del càncer en les qual es busquen possibles tractaments o obtenir més coneixements del càncer que s’investiga. És molt important veure i conèixer com podria reaccionar un tractament contra el càncer contra cèl·lules tumorals humanes i com que només es pot investigar primerament amb animals és molt important el paper dels ratolins nus.

Per tant, a aquests ratolins se’ls implanten cèl·lules tumorals humanes i es proven tractaments (com fàrmacs antitumorals) que no requereixen de resposta immune per veure si aquets tractaments compleixen adequadament la seva funció .



“Nude Mouse – Ratolí nu.”

➤ *Passos previs a l'experimentació amb animals:*

-Començar a una investigació no és un procés ràpid i menys si s'empren animals d'experimentació, ja que es necessiten unes determinades instal·lacions i a partir d'uns documents que demana El Comitè d'Ètica de cada país, s'ha d'explicar com serà la investigació i demostrar que la investigació que es portarà a terme compleix la directiva adequadament.

Abans de començar qualsevol investigació on s'emprin animals d'experimentació s'han de tenir accés a unes determinades instal·lacions anomenades Estabularis.

En els estabularis només hi poden treballar investigadors amb coneixements de veterinària o aquests investigadors han de tenir el suport i l'assessorament de veterinaris per garantir el benestar dels animals.

- **Estabulari:**

Un estabulari és un àrea dedicada a la producció i manteniment d'animals d'experimentació amb sales per a l'allotjament d'aquests animals (normalment rosegadors) i cada sala amb el seu respectiu laboratori.

La instal·lació ha de comptar amb un equip veterinari que garanteixi l'ús adequat dels animals i una correcta atenció dels mateixos. Aquests veterinaris poden ser tant els investigadors del seu propi estudi com també poden donar suport a investigadors que no són veterinaris.

L'estabulari, també té un protocol d'higiene i seguretat molt estricte per evitar qualsevol transferència de substàncies(microorganismes) de l'exterior cap a l'interior i viceversa, per garantir la seguretat de les persones tant com la dels animals d'experimentació.

A més a més, l'estabulari ha de complir totes les normes del Comitè Ètic d'Experimentació Animal de cada país.



-Però per a que comenci una investigació amb animals d'experimentació, primer l'ha d'autoritzar el Comitè d'Ètica.

• El Comitè d'ètica/Comissió Ètica d'animals d'experimentació:

La comissió Ètica d'animals d'experimentació té com a objectiu assegurar-se del compliment de la normativa (Espanyola: Real Decret 53/2013) en totes les investigacions amb animals d'experimentació que es realitzin. [Annex 13]

El Comitè es preocupa per el benestar animal, el desenvolupament i la fabricació de productes farmacèutics, aliments, pinsos i altres substàncies o productes. S'assegura de comprovar la qualitat, l'eficàcia i la seguretat de totes les investigacions que utilitzen animals i s'encarrega de fer inspeccions d'aquestes investigacions per garantir el compliment de totes les lleis respecte els animals d'experimentació .

■ Com s'assegura el Comitè de que una investigació és apta?

-Quan un centre d'investigació vol començar una investigació amb animals d'experimentació ha de passar un procés de tràmits on aquest centre/investigador haurà d'omplir uns determinats documents.

A. S'ha d'omplir un sol·licitud d'autorització en la qual es demana adjuntar uns determinats documents.

Els quatre documents (un no obligatori) que s'han d'adjuntar per a que el Comitè d'ètica autoritzi la investigació.

**Generalitat de Catalunya**

Sol·licitud d'autorització d'un projecte amb procediments d'experimentació amb animals o de modificació rellevant o pròrroga d'un projecte autoritzat

Documentació annexa

Adjunteu els següents documents:

☒ Memòria del projecte	<i>obligatori</i>	Adjunta	Suprimeix	Mostra	Descarrega
☒ Memòries dels procediments	<i>obligatori</i>	Adjunta	Suprimeix	Mostra	Descarrega
☒ Informe del comitè ètic d'experimentació animal del centre	<i>obligatori</i>	Adjunta	Suprimeix	Mostra	
☐ Resum no tècnic. Obligatori en el tipus II i III. El document ha de ser en versió castellana obligatòriament, si s'afegeix la versió catalana, s'ha d'incloure en el mateix document.	<i>opcional</i>	Adjunta	Suprimeix	Mostra	Descarrega
☐ Còpia de l'informe d'avaluació de l'òrgan habilitat diferent a la Comissió d'Experimentació Animal, o en el cas que no es disposi, còpia de la sol·licitud de l'informe.	<i>opcional</i>	Adjunta	Suprimeix	Mostra	

 Feu clic a "Descarrega" per obrir el formulari específic, ompliu-lo, guardeu-lo al vostre ordinador, feu clic a "Adjunta" i seleccioneu el formulari específic emplenat que heu guardat prèviament.
La mida màxima del fitxer de sol·licitud incloent-hi els adjunts és de 5MB.

A. 1) Memòria del projecte:

-En aquest document es troben les dades de l'investigador responsable del projecte i del personal que hi participarà. També es presenten les dades generals del projecte com el títol i la hipòtesi. Seguit es presenten els **objectius** que es volen aconseguir amb la investigació i a més a més de l'objectiu, s'explica perquè no és possible arribar als objectius esmentats anteriorment sense la utilització d'animals.

També en el document es troben les paraules claus que s'utilitzaran en la investigació i la **finalitat** d'aquesta.

Per finalitzar, en el document, es troba la **justificació**, on es donen les raons per l'estudi del problema i els possibles beneficis que pot tenir aquesta investigació. [Annex 14]



Generalitat de Catalunya
**Departament de Territori
i Sostenibilitat**

M0348

Memòria descriptiva d'un projecte d'experimentació amb animals

1. Dades de l'usuari (persona física o jurídica que utilitza animals en procediments)

2. Dades d'identificació de la persona responsable del projecte

3. Dades del personal que participa en el projecte

4. Dades generals del projecte

Títol del projecte

5. Objectius del projecte

Objectius del projecte

Justifiqueu per què no és possible assolir aquests objectius sense utilitzar animals

Indiqueu la cerca que heu realitzat indicant quan, quines fonts i les paraules claus utilitzades

Avantatges i beneficis científics que es deriven d'aquest projecte o valor docent, en cas d'assolir els objectius

6. Finalitat

“Esquema del document original per adjuntar: *Memòria del projecte* de la Generalitat de Catalunya.”

A. 2) Memòries dels procediments:

-És el segon document per adjuntar en la sol·licitud. Aquest document ha d'informar del procés que se seguirà, els materials que s'utilitzaran i dels animals d'experimentació. Hi ha informació que no es troba en l'altra memòria com: les dades dels animals que s'utilitzaran i les condicions en les quals es trobaran, el disseny i la metodologia, els criteris de punt final i la finalització de la investigació.

En general aquest document es centra més en com es portarà a terme la investigació i tot lo relacionat amb els animals que formaran part d'aquesta.

[Annex 15]

	Generalitat de Catalunya Departament de Territori i Sostenibilitat	M0348
Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animals		
1. Dades d'identificació del projecte		
4. Finalitat/s del procediment		
5. Dades dels animals que s'utilitzaran (espècie i nombre)		
7. Disseny i metodologia		
8. Anestèsia i analgèsia		
10. Condicions d'allotjament, zootècniques i cura dels animals		
11. Protocol de supervisió del patiment, el dolor o angonya que puguin experimentar els animals		
12. Criteris de punt final		
13. Finalització del procediment		
14. Grau de severitat del procediment		

“Esquema resumit del document original per adjuntar: <Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animal> de la Generalitat de Catalunya”

→ Criteris de Punt Final:

-Reconèixer que un animal de laboratori està patint dolor és molt important per al compliment de les *Tres R's*.

Però saber identificar que un animal està patint dolor no és tan fàcil com sembla.

El Dr. Jeffrey Mogil va demostrar que els canvis en l'expressió facial són un mètode eficaç i ràpid per detectar que un rosegador pateix dolor.

Actualment, en les investigacions amb animals d'experimentació existeixen unes taules (per a rosegadors) anomenades: *Escala de Grimace (mouse Grimace scale)*.

Aquestes escales estan basades en canvis d'unes determinades accions facials que determinen si l'animal pateix dolor o no. Per a que el ratolí presenti dolor:

1. El ratolí ha de mostrar un estrenyiment en els ulls (els músculs es contrauen), o les parpelles tancades. Qualsevol tancament d'ull que redueixi la mida dels ulls més de la meitat es considera com a "2" (Dolor intens)
2. El ratolí ha de tenir un protuberància al damunt del nas i hi haurà una contracció dels músculs i la pell.
3. El múscul de la galta del ratolí s'ha de contraure's i hi apareix una protuberància.
4. Les orelles del ratolí s'han de moure de la seva posició inicial col·locant-se contra el cap. Les orelles tendeixen a girar cap a fora i enrere (lluny de la cara).
5. S'ha de presentar un canvi de posició dels bigotis en comparació de la posició natural. Normalment canvien posant-se en direcció contrària a la galta.



✚ **El criteri de punt final** és un indicador necessari en un experiment amb animals. Indica quan un animal està patint un nivell de dolor intens. Independentment de l'objectiu de l'experiment, es busca una solució per evitar aquest dolor com retirar de l'estudi a l'animal o, com a últim cas, sacrificar-lo humanitàriament (sense dolor). El seu objectiu és limitar el patiment dels animals al que és estrictament necessari, per així fer un ús ètic, moral i adequat dels animals d'experimentació.

A. 3) Informe del comitè ètic d'experimentació animal del centre:

És un document del comitè ètic del centre on es portarà a terme la investigació, en aquest cas: El Comitè Ètic de la UAB.

En aquest document s'explica per sobre com serà la investigació, la finalitat i objectius d'aquesta i emfatitza especialment en que s'expliqui per què és necessària la utilització d'animals d'experimentació en la investigació, en quines condicions es trobaran els animals, quant patiran i com s'evitarà el patiment.

Aquest document en general informa de com seran les condicions en les que es trobaran els animals i que es farà un ús ètics dels mateixos.

1. Títol:

2. Procediment d'experimentació animal

5. Justificar la no existència de mètodes alternatius

7. Supòsits que d'acord amb el que estableix l'article de la Llei 5/1995, obliguen a tenir **autorització expressa de la Comissió d'Experimentació Animal de la Generalitat (CEA)**

8. Objectius del procediment d'experimentació

**18. Idoneïtat de les espècies seleccionades.
Reutilització d'animals**

19. Grau severitat

21. Supervisió animal. Evitació de patiments innecessaris.

“Esquema resumit per protecció de dades del tercer document: *Informe del comitè ètic d'experimentació animal del centre.*”

A. 4) Resum no tècnic: document que resumeix la investigació sense tecnicismes.

Títol del projecte	
Durada del projecte	
Paraules claus (màx. 5)	
Finalitat prioritària o més rellevant del projecte	☐ Recerca fonamental. ☐ Recerca translacional o aplicada. ☐ 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. ☐ 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.
Descripció dels objectius del projecte (p. ex. aclariments de qüestions científiques o resolució de necessitats clíniques)	
Quins són els beneficis potencials que es podrien derivar d'aquest projecte? (avenços científics prevists o de quina manera les persones/animals es podrien beneficiar del projecte)	
Quines espècies i nombre d'animals està previst utilitzar?	
Tenint en compte el disseny experimental, quins perjudicis es preveuen, quin grau de severitat és més probable i quin serà el destí dels animals?	
Aplicació de les tres erres (3R)	
1.Reemplaçament : Expliqueu per què és necessari utilitzar animals i per què no es poden utilitzar mètodes alternatius	
2.Reducció: Expliqueu de quina manera s'assegura que s'utilitzen el mínim nombre d'animals possibles sense comprometre els objectius del projecte	
3.Refinement: Tenint en compte els objectius científics del projecte, expliqueu l'elecció de les espècies i per què el model o models animals són els més adients. Expliqueu les mesures generals que està previst aplicar per minimitzar l'afectació del benestar dels animals.	

“Versió original per omplir del document : *Resum no tècnic*”

Pràctica:

Gràcies al Programa Argó de la UAB vaig tenir l'oportunitat de tenir l'assessorament de veterinaris experts en el tema del meu Treball de Recerca i a més a més, per a la meua part pràctica vaig poder assistir a la primera fase d'una investigació real que té com a objectiu la recerca d'una vacuna de DNA que serveixi com a una possible cura per al càncer de pròstata.

Primerament, vaig haver de informar-me de què és el càncer, dels diferents tipus que existeixen i després vaig haver de concretar amb el càncer de pròstata, els diferents tractaments i l'actual tractament amb el qual s'està investigant, la Vacuna de DNA. Així pretenia poder entendre realment el motiu de l'inici d'aquesta investigació biomèdica.

La investigació té com a objectiu trobar una vacuna de DNA amb la seqüència de nucleòtids adequats per a que quan el DNA de la vacuna s'implanti (amb l'ajuda de l'electroporació) al DNA del nucli d'una cèl·lula normal, aquest DNA implantat informi per a que les cèl·lules del sistema immune humà ataquin al càncer prostàtic. Quan aquesta cèl·lula sintetitzi proteïnes, durant el procés de traducció, es traduiran els triplets de nucleòtids ja presents anteriorment i també es traduirà la nova seqüència implantada de DNA de la vacuna. Aquest DNA conté la informació necessària per a quan la informació genètica sigui traduïda, aquesta cèl·lula modificada sintetitzi una proteïna que activi un petit grup de cèl·lules del sistema immunològic amb la funció d'atacar el tumor i evitar el creixement d'aquest.

Però per veure si realment funciona aquest tractament s'ha de provar la seva eficàcia i gracies a la nostra legislatura actual, abans de provar qualsevol medicament amb humans, primer s'ha de provar amb animals i assegurar la seva efectivitat. És aquí on entra en joc el paper tan important que tenen els animals d'experimentació en les investigacions biomèdiques.

Per tant, en aquesta investigació s'està provant l'eficàcia d'aquesta vacuna de DNA amb animals d'experimentació, més concretament ratolins.

L'experimentació animal d'aquest estudi s'ha portat i es porta a terme en l'estabulari de la UAB (encara no ha acabat l'estudi), on també es porten a terme altres recerques d'empreses i d'investigadors de la universitat.

Però abans de començar la investigació s'ha de passar el procés d'afirmació per part del Comitè d'ètica.

→ Documents - Comitè d'ètica:

- Gràcies a l'accés a documents de la universitat, ha sigut possible fer una petita representació dels documents reals que s'han presentat al comitè d'ètica de la UAB i de la generalitat de Catalunya per realitzar aquesta investigació.
- Per mantenir la privacitat de noms i dades personals només s'han resumit en els dos punts més importants els documents: Memòries del procediment i Informe del comitè ètic d'experimentació animal del centre.

19. Objectius del procediment d'experimentació

Descriure els principals objectius que es pretenen assolir amb la realització d'aquest procediment d'experimentació

El objetivo principal es estudiar la regresión tumoral mediante una vacuna de ADN plasmídico en el tratamiento del cáncer de próstata en ratón.

Para ello, y como primer objetivo (respuesta inmunogénica) debemos establecer las eficacias inmunogénicas de distintos plásmidos vacunales administrados en el ratón mediante la técnica de la electroporación. Los plásmidos están diseñados y producidos por el grupo investigador que lidera este estudio, por lo que disponemos de resultados previos in vitro/in vivo.

En el segundo objetivo (ensayo de regresión tumoral) y sólo con los plásmidos que hayan inducido mejor respuesta inmunológica, pretendemos determinar su eficacia/capacidad en la regresión del tumor en animales previamente xenotrasplantados con células tumorales de tejido prostático de ratón transgénico, procedentes de la ATCC (TRAMP-C1, ATCC® CRL-2730(TM)).

Para la ejecución del presente estudio, se tiene en consideración toda la información previamente publicada y relacionada con el tipo de vacuna (ADN), con la técnica de administración de los plásmidos (electroporación), y con la línea celular a inocular.

20. Idoneïtat de les espècies seleccionades. Reutilització d'animals.

Espècie	Ratolí
Soca	C57BL/6
Num. animals	132
Freqüència (nombre de vegades que es preveu realitzar aquest procediment en un any):	3

“Primer i segon document: Memòries del procediment i Informe del comitè ètic d'experimentació animal del centre.”

“Tercer document: Informe del comitè ètic d’experimentació animal del centre.”

1. Títol

Evaluación comparativa de la eficacia de diferentes plásmidos vacunales en la regresión tumoral en un modelo murino.

2. Procediment d’experimentació animal

☒ Nou

☐ Renovació de CEEAH num.

☐ Modificació de CEEAH num.

☒ Investigació

☐ Docència

5. Justificar la no existència de mètodes alternatius

Valorar la eficacia protectora de una vacuna implica evaluar la respuesta del organismo vivo en cuanto a la producción de anticuerpos sistémicos.

La obtención de datos preclínicos referidos a la i) seguridad y tolerabilidad entre los animales vacunados, ii) la huella/impacto de la vacunación en la transmisión del patógeno, así como iii) la optimización de la dosis y su formulación, permiten dirigir más adecuadamente la traslación hacia la clínica humana y veterinaria.

Se establecen interacciones complejas entre éste y otros sistemas (por ejemplo, el nervioso), permitiendo generar la respuesta en el animal, que a día de hoy, no pueden ser reproducidas/estudiadas por métodos "alternativos".

Para la realización de estos estudios se considerará toda la información obtenida en estudios publicados en PubMed, así como los resultados previos obtenidos por el grupo de investigación que desarrolla este producto inmunoterapéutico.

7. Supòsits que d’acord amb el que estableix l’article 17.2 de la Llei 5/1995, obliguen a tenir autorització expressa de la Comissió d’Experimentació Animal de la Generalitat (CEA)

Supòsit	Si	No
Utilització d’animals que no proveniguin de centres de cria o subministradors d’animals d’experimentació, degudament registrats (Llei 5/1995 i Real Decreto 1201/2005)	☐	☒
Proveïdor dels animals		
Servei d’estabulari		
Utilització d’animals salvatges capturats en la natura, d’animals protegits o d’espècies en perill d’extinció	☐	☒
Execució total o parcial del procediment fora dels centres registrats.	☐	☒
Alliberament dels animals durant el procediment d’experimentació	☐	☒
No utilització d’anestèsia, analgèsic o altres mètodes destinats a eliminar al màxim el dolor, el sofriment o l’angoixa per ser incompatibles amb els resultats perseguits pel procediment o estar-hi contraindicats	☐	☒
En finalitzar un procediment que utilitza animals capturats en la natura, es preveu l’alliberament dels animals al medi originari	☐	☒
Es preveu que en el procediment proposat l’animal pot patir un dolor greu i perllongat	☐	☒
Es preveu la utilització d’animals prèviament sotmesos a un altre procediment d’experimentació	☐	☒

Resumen no técnico			
Título del proyecto	Evaluación comparativa de la eficacia de diferentes plásmidos vacunales en la regresión tumoral en un modelo murino.		
Duración del proyecto	2 años		
Palabras clave (máx. 5)	Vacuna, plásmido, tumor		
Finalidad del proyecto (Artículo 5)	Investigación básica		
	Investigación traslacional o aplicada	X	
	Desarrollo y fabricación de prod. farmacéuticos, alimentos, piensos y otras sustancias o productos, así como la realización de pruebas para comprobar su calidad, eficacia y seguridad		
	Protección del medio natural en interés de la salud o el bienestar de los seres humanos o los animales		
	Investigación dirigida a la conservación de las especies		
	Enseñanza superior o formación para la adquisición o mejora de las aptitudes profesionales		
	Medicina legal y forense		
	Mantenimiento de colonias o animales genéticamente modificados, no utilizados en otros procedimientos		
Descripción de los objetivos (ej.: aclaración de cuestiones científicas o resolución de necesidades clínicas)	Valorar la eficacia protectora de una vacuna de ADN en el tratamiento del cáncer de próstata en un modelo de ratón.		
¿Cuáles son los beneficios potenciales que se esperan de este proyecto? (avances científicos previstos o manera en que las personas/animales se pueden beneficiar del proyecto)	Ampliar nuestro conocimiento sobre la inmunoterapia como estrategia en el tratamiento contra el cáncer.		
¿Qué especies y nº aprox. se espera utilizar?	Ratón, 132 animales		
Teniendo en cuenta lo que se va a hacer con los animales, ¿qué efectos adversos se esperan, qué grado de severidad es más probable y cuál será el destino de los animales?	El animal podría manifestar estrés/malestar/dolor como consecuencia de la administración intramuscular del tratamiento. No obstante, se minimizará esta situación puesto que la administración intramuscular se hará con el animal anestesiado. Consideramos que el grado de severidad de este estudio es “severo”., por la inducción del tumor en el animal, que serán eutanasiados al finalizar el estudio.		
Application de las 3R			
1. Reemplazo Explique por qué se necesita el uso de animales y porqué no se pueden utilizar métodos alternativos	Valorar la eficacia protectora de una vacuna implica evaluar la respuesta del organismo vivo en cuanto a la producción de anticuerpo. Por lo tanto, la obtención de datos en estudios en animales van a permitir dirigir los resultados al problema clínico humano.		
2. Reducción Explique cómo se asegura la utilización de un nº mínimo de animales.	Basándonos en nuestra experiencia y los buenos resultados obtenidos en estudios anteriores, el número de animales requerido es el necesario para alcanzar los objetivos.		
3. Refinamiento Explique en función de qué se ha elegido el tipo de especies y porqué el modelo o modelos utilizado son los más adecuados en cuanto al Refinamiento, teniendo en cuenta los objetivos científicos. Explique también las medidas legales que se van a tomar para minimizar los daños al bienestar de los animales.	Disponemos de mucha información sobre la fisiología de esta especie, además, de ser una animal fácil de manipular. Los animales serán sometidos a una supervisión exhaustiva: cada 15 minutos durante las primeras 2 horas después de la administración de la vacuna, para continuar con 1 vez al día a lo largo de la primera semana, y después 1 vez cada semana hasta la eutanasia (finalización del estudio). Los criterios de supervisión permitirán detectar alteraciones significativas que justificarán la aplicación de pautas de punto final y la eutanasia humanitaria de los animales.		

“Quart document: Resum no tècnic (Versió original).”

→ L'entrada a l'estabulari:

Com ja s'ha esmentat anteriorment, en un estabulari es té molta cura amb la higiene i se segueix un protocol molt estricte per evitar possibles contagis als investigadors i animals.

Vaig poder entrar a l'estabulari de la UAB i fer el seguiment de la primera etapa de la investigació i per conseqüència vaig conèixer i portar a terme el protocol de seguretat següent:

- 1) Abans d'entrar a la zona de l'estabulari on es fan les experimentacions s'ha d'anar a fer un petit curset d'unes hores on s'explica com són les instal·lacions per dintre, les diferents sales de l'estabulari, per a què serveixen i les normes que s'han de complir.
-En el cas d'aquest estabulari, es divideix pràcticament en tres zones:
 - La zona bruta: la zona que està més en contacte amb els microorganismes de l'exterior, on es troba la porta principal i els despatxos.
 - Els vestidors: on els investigadors es canvien la roba, deixen les seves propietats i es renten.
 - La zona Biològica 1/2: que és on es troben tots els laboratoris, els rosegadors i tota la maquinaria i objectes necessaris. En la zona 1 (on es porta a terme la investigació d'aquest treball) no hi ha tantes normes de precaució i vestimenta, per contra, a la 2 les normes són molt més estrictes, ja que hi ha més perill de "contaminació".
- 2) Després d'assistir al curs, se signen uns documents on l'implicat es compromet a seguir el protocol de seguretat i totes les normes vigents.
Una premissa interessant de les normes és que si s'està en contacte amb rosegadors que no siguin de l'estabulari, no es pot entrar a l'estabulari fins passades 72 hores per precaució.
- 3) Abans d'entrar als vestidors, en la zona bruta, qui vol entrar a la zona biològica s'ha de registrar en un paper on s'ha de posar el nom, l'hora d'entrada, el nom del grup d'investigació. Al sortir del vestidor per marxar de l'estabulari, s'ha de repetir el procediment.

Data	Hora entrada	Nom i Cognom	Grup Investigació	Signa	Hora sortida	Signa
12-12-17	8:30 H	...	UAB		13:45 H	

"Representació de la fitxa de registre"

- 4) En el vestidor: Un cop s'entra al vestidor s'ha de deixar qualsevol objecte que hagi estat a l'exterior que no sigui roba, per exemple: el mòbil, motxilles, etc..
*Si es vol entrar qualsevol objecte de l'exterior ha de passar per un procés de desintoxicació en una càmera amb productes químics.
-Una vegada només es té la roba posada, s'ha de posar la vestimenta següent:
*Si es té el cabell llarg s'ha de recollir.



- ➔ En el vestidor es posa el gorro, la mascara facial, la bata de roba, un parell de guants i un parell de peücs(els peücs en els peus no poden tocar el terra del vestuari, han de tocar directament el terra de la zona biològica).
Seguidament, abans d'entrar a la sala on es troben els animals i s'experimenta, s'ha de posar la segona bata de paper i el segon parell de peücs (aquests només poden tocar el terra de la sala d'experimentació).
Una vegada dintre només s'ha de posar el segon parell de guants.

5) L'equip de l'estabulari (sala d'experimentació):

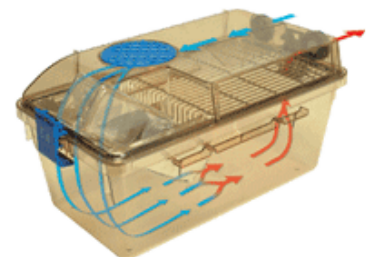
-Ja dins de la sala d'experimentació s'ha de desinfectar els guants i tots els materials que s'utilitzin amb el CR-36 (bactericida-fungicida).

Aquesta sala compte amb la maquinaria següent:

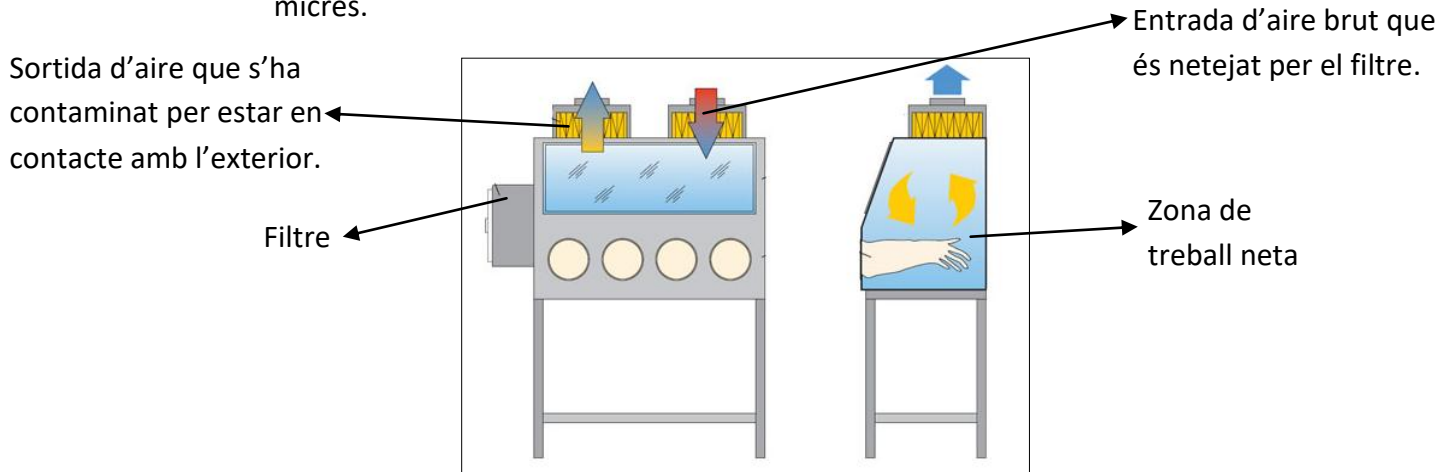
- Racks Ventilats: És una màquina que ventila totes les gàbies del ratolins i manté estable el flux i la humitat d'aire. Aquesta màquina és com un filtre, agafa aire de l'exterior i el neteja de microorganismes i d'algunes partícules per a que els ratolins no respirin aire que els pugui perjudicar.



- IVC (Individual ventilated cage): Són unes gàbies amb ventilació individual que s'utilitzen per mantenir un animal o un determinat grup separat d'altres animals o grups. Aquestes gàbies tenen als animals aïllats a l'exposició d'aire "brut" gràcies a la connexió amb l'aire que filtra el Rack Ventilat i per que les gàbies tenen una entrada d'aire amb filtrador que també neteja l'aire que entra.



- Cabina de flux laminar: És una campana de flux laminar, és a dir, és una campana que utilitza un ventilador per a forçar el pas de l'aire de l'exterior traves d'un filtre i gràcies al filtre es proporciona aire net i una zona per a treballar amb els animals de l'experiment lliure de partícules de fins 0,1 micres.



- Màquina d'anestèsia:

És un equip compost per diferents elements. La màquina d'anestèsia en aquesta investigació té com a finalitat l'administració per via pulmonar d' O_2 (procedent d'una bombona connectada a l'equip) més un vapor inhalador anestèsiant (*isoflurane*).

Recipient on es barreja l' O_2 i el *Isoflurane* líquid que es torna vapor per la pressió en la que és sotmès.



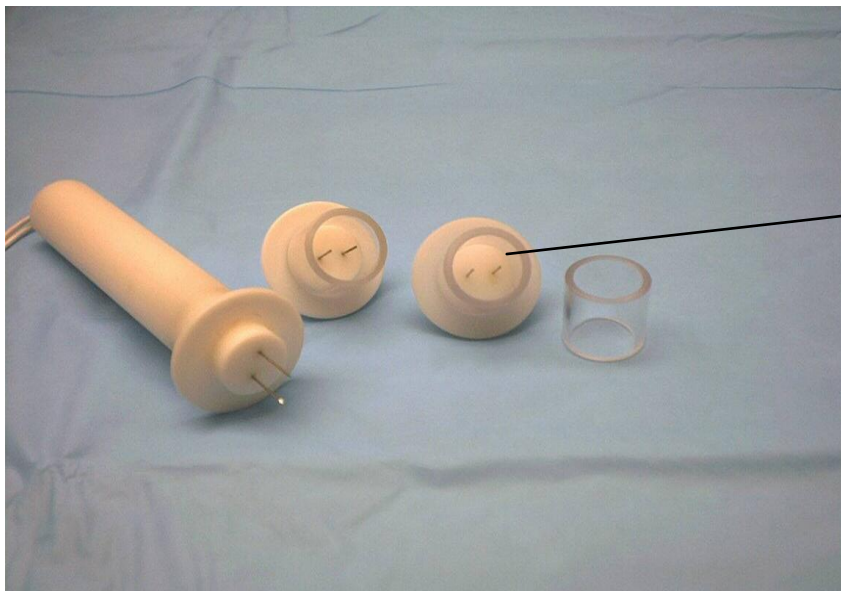
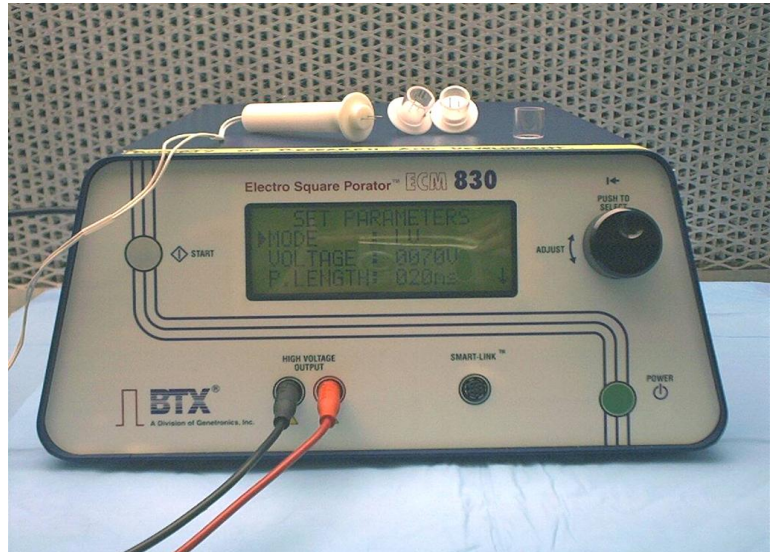
Indicador de la pressió de l' O_2 .

Caixa que està connectada a la màquina d'anestèsia a partir d'uns tubs on passa l'aire amb vapor d'anestèsia i arriba a la caixa. Els ratolins són tancats en la caixa, inhalen l'anestèsia i s'adormen.



- Electroporador:

L'electroporador és una màquina que té com a objectiu provocar l'obertura del porus cel·lulars que es troben en les membranes plasmàtiques de les cèl·lules. L'electroporador ho porta a terme mitjançant un camp elèctric (zona de l'espai en la que hi ha força elèctrica) que s'aplica externament a través de dues agulles.



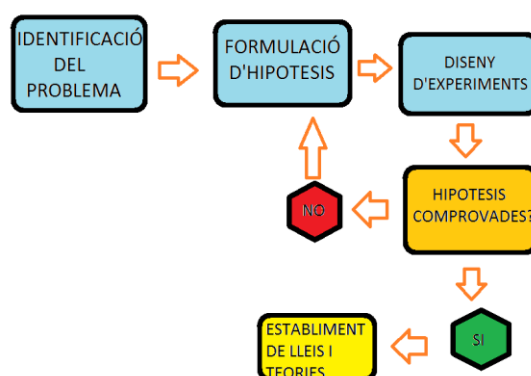
Doble agulla que s'introdueix a la zona del cos del ratolí on es vol que els porus cel·lulars es dilatin.

La agulla és reutilitzables, és pot utilitzar més de 10 vegades.

➤ Mètode experimental basat en la investigació:

-A més a més de poder veure les instal·lacions de l'estabulari per dintre, també vaig tenir la oportunitat de veure el desenvolupament de la investigació, la metodologia que utilitzaven i com els investigadors manipulaven als ratolins i seguidament, comprovar si realment se segueixen les lleis imposades que protegeixen als animals d'experimentació i si es té ús ètic dels animals.

-Per explicar tot el procediment de l'experiment, el treball seguirà l'estructura del mètode experimental.



1. Com ja s'ha esmentat anteriorment en el treball, el **problema** que va fer iniciar aquesta investigació va ser que en la actualitat el càncer de pròstata és un dels càncers en homes més comuns a escala mundial i encara no té una cura totalment eficaç. Però el recent desenvolupament de la vacuna de DNA va fer preguntar-se: **Pot ser la vacuna de DNA una possible cura per el càncer de pròstata?**
2. Un cop establert quin és el problema del qual es vol trobar una solució es va formular una possible **hipòtesi**, és a dir, una possible resposta per al problema; que és la següent: **Potser alguna vacuna amb una seqüència determinada de DNA pot evitar o disminuir el creixement del tumor i combatre el càncer de pròstata.**
3. Per saber cap a quina direcció dirigir la investigació es va fer una **deducció** dels possibles resultats:
Si alguna vacuna amb una determinada seqüència de DNA evita el creixement d'un tumor prostàtic, llavors si provem diferents seqüències de DNA amb ratolins d'experimentació trobarem la seqüència més adequada.

4. Experimentació:

-Com es volia provar diferents vacunes amb diferents seqüències de DNA i aquestes vacunes són un possible tractament per al càncer de pròstata humana, com dicta la Declaració de Helsinki explicada anteriorment, abans de provar qualsevol medicament amb persones, primer s'ha de fer amb animals d'experimentació.

Aquesta investigació està dividida en dues parts i actualment només s'ha portat a terme la primera.

-La primera part ha consistit en provar diferents vacunes de DNA amb ratolins als quals se'ls hi va injectar subcutàniament cèl·lules prostàtiques cancerígenes de ratolí a la part dreta del tronc.

-La segona part consistirà en *injectar-li a un grup de ratolins les vacunes amb millors respostes. Però aquests ratolins tindran cèl·lules prostàtiques cancerígenes d'humans, per així poder veure com reaccionen les seqüències de DNA amb cèl·lules humanes.*

-Com només s'ha portat a terme la primera part de la investigació, només aquesta serà explicada en aquest treball.

→ La primera part de l'experiment/estudi va consistir en:

Per fer les proves es van escollir ratolins mascle de tipus *C57BL/6*.

Els ratolins en aquesta investigació només van ser models animals ja que no tenien cap cèl·lula humana.

Aquest tipus de ratolí de color negre és el més freqüent en experimentacions i són els més utilitzats en modificacions genètiques per utilitzar-los com a models de malalties humanes.

*Només es van utilitzar ratolins mascles en l'experimentació ja que només el sexe masculí té pròstata i per tant, només els mascles poden presentar càncer de pròstata.



"Ratolí de tipus: *C57BL/6*"

➔ En la primera part de la investigació, primerament es van utilitzar en total 64 ratolins mascles. Aquests estaven organitzats de la manera següent:

- Les gàbies s'ordenaven de manera alfabètica de la "A" fins a la "P", setze gàbies i quatre ratolins per gàbia.

A - 4	E - 4	I - 4	M - 4
B - 4	F - 4	J - 4	N - 4
C - 4	G - 4	K - 4	O - 4
D - 4	H - 4	L - 4	P - 4

Esquema de la distribució de les gàbies.

- Per poder identificar als ratolins adequadament a l'hora de treballar amb ells, se'ls hi va fer uns determinats forats en les orelles, els qual no es repetia en la seva distribució entre els quatre ratolins per no haver-hi cap confusió. Per enrecordar-se de quin ratolí tenia cada forat, en cada gàbia hi havia unes etiquetes on s'especificava la informació bàsica dels ratolins, el grup d'investigació i la distribució dels forats amb uns triangles que simulen les orelles dels ratolins (^ ^).



“Etiquetes d'identificació de les gàbies i ratolins.”

- ➔ En aquesta investigació la **variable controlada** (variable que modifiquen els investigadors durant l'experiment) va ser **les diferents vacunes amb la seva respectiva seqüència de DNA**.
- ➔ Per conseqüència, la **variable dependent** (variable que s'observa durant l'experiment) va ser **disminució dels tumors prostàtics dels ratolins**.
- ➔ Però durant la investigació també es van tenir en compte altres tipus de variables que poden afectar als resultats finals de l'estudi; les **variables controlades**.

Era molt important la qualitat de **l'aire (la humitat i la temperatura)** per a que els ratolins no s'infectessin amb cap microorganisme de l'exterior i alteressin els resultats finals.

Altre variable molt important era **l'alimentació**. El menjar dels ratolins era un pinso comprimit passat per una olla de pressió per eliminar qualsevol microorganisme perjudicial per als animals, tenia tots els nutrients necessaris i tenia una forma especial per a que el ratolins haguessin de rossegar el pinso (fet que fan els ratolins per instint). L'aigua també era especial, era tractada abans per a que no tingués cap tipus de partícula.

–També tenien en compte **l'enriquiment ambiental**, Se'ls hi posaven rotllos petits de paper en funció de nius per a que els ratolins se sentissin més còmodes i no s'estressessin, ja que l'estrès també pot afectar la salut dels ratolins i per tant els resultats de la investigació.



“Pinso dels ratolins.”



“Enriquiment Ambiental.”

5. Disseny de l'experiment:

- Una vegada es va tenir als ratolins identificats i en les condicions adequades el següent pas va ser injectar als ratolins cèl·lules prostàtiques cancerígenes de ratolí de manera subcutània per així poder seguir amb més facilitat els canvis dels tumors.

Aquest procés va començar 10 dies abans de que s'apliqués la vacuna de DNA per a que el càncer es desenvolupés. Per tant, quan van aplicar les cèl·lules cancerígenes serà el dia -10.

El procés d'injectar les vacunes de DNA i avaluar als ratolins va durar 53 dies.

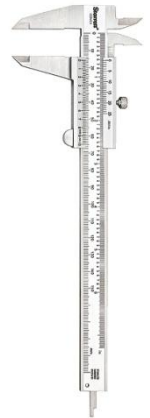
Vaig poder veure com va tenir lloc aquest procés, que va ser de la següent manera:

- **DIA 0**: Va ser el primer dia, en el qual se'ls hi va injectar la vacuna de DNA als ratolins. Els animals ja tenien les cèl·lules cancerígenes injectades.

Primerament s'agafaven les gàbies en l'ordre en que es trobaven i se'ls hi feia als ratolins un reconeixement físic. Se'ls pesava per veure si tenien alguna patologia i així saber si menjaven bé o si potser es trobaven malament, se'ls hi miraven les punxades que se'ls hi havien fet per injectar les cèl·lules tumorals per si presentaven alguna úlcera.

A continuació, se'ls anestesiava per poder mesurar el tumor amb més facilitat. Els tumor dels ratolins es mesuraven amb un Peu de Rei i es mesurava la longitud (alçada) i el transvers (amplitud) dels tumors.

Al anestesiar-los se'ls hi posaven llàgrimes artificials als ulls per a que no els hi sortissin úlceres.

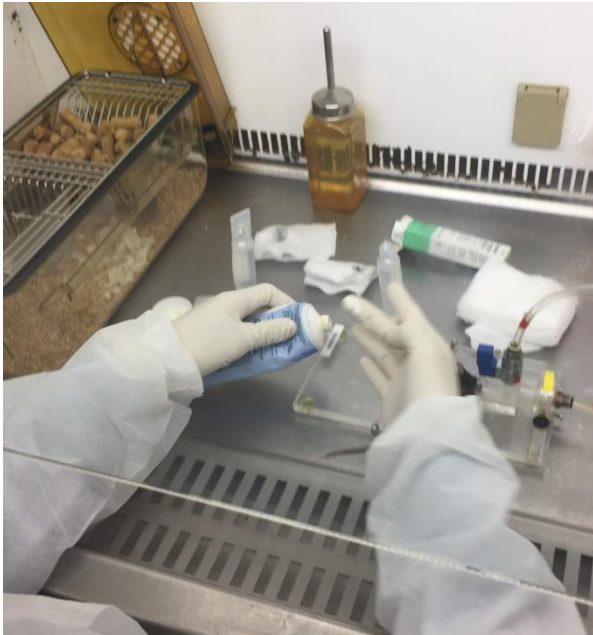


“Anestesia dels ratolins.”



“Aplicació de les llàgrimes artificials.”

- Una vegada mesurat el tumor, se'ls hi mantenia adormits per a depilar-los la zona de la pota on s'introduiria la vacuna de DNA.



“Depilació dels ratolins amb crema depilatòria per a persones, ja que era el mètode menys indolor i efectiu.”



“Zona depilada on s'injectarà la vacuna de DNA.”

- Després de la depilació, seguia el procés d'injecció de les vacunes de DNA als ratolins.

A cada grup de quatre ratolins (per gàbia) li pertanyia un seqüència diferent de DNA en la vacuna. La vacuna de DNA era injectada en el mateix lloc per a tots els ratolins, a la pota dreta, en un múscul proper a la tibia.

Els investigadors seguien mantenint adormits als ratolins per a que no sentissin la punxada de la injecció i per a que no s'estressessin.



“Injecció de la vacuna de DNA.”

- Per últim, es portava a terme l'electroporació de les cèl·lules dels ratolins properes a la zona on s'havia injectat la vacuna de DNA, per a que aquesta substància tingués més facilitat per entrar a alguna cèl·lula electroporada del ratolí a partir dels poros oberts de la membrana cel·lular.



“Electroporació d'un ratolí.”

- S'extreia del ratolí la màscara que el mantenia adormit i el deixaven en la seva gàbia per a que es despertés i es recuperés de l'anestèsia. Aquí acabaria el procés d'observació i d'injecció de la vacuna de DNA als ratolins.
- Aquest procés es va repetir el 10 i 20 de la investigació. Per tant, als ratolins se'ls hi van injectar 3 vegades la seva corresponent vacuna de DNA perquè altres estudis que s'havien realitzat sobre la vacuna de DNA anteriorment informaven que els resultats eren més efectius si s'injectava la vacuna tres vegades.
- Els dies cinc, vint-i-cinc, trenta dos, trenta vuit, quaranta sis i cinquanta tres només es va fer una observació física dels ratolins per veure si patien algun dolor i mesuraven els tumors per fer un seguiment de l'evolució d'aquests.
- La resta dels dies els animals feien vida “normal” es les seves respectives gàbies a l'estabulari.

5.1. Control:

El control és una part important dels experiments en les quals un determinat nombre d'animals que formen part de la investigació tenen les mateixes variables controlades durant la investigació però no tenen la variable independent.

Fer un control serveix per a que a l'hora d'arribar a una conclusió amb els resultats de l'experimentació es pugui comparar els resultats de la part de l'experimentació amb control i els resultats sense control i determinar si realment les hipòtesis es compleixen o no.

Aquesta investigació contava amb dos controls:

- El **control Negatiu**: quatre ratolins de la investigació sense cèl·lules cancerígenes prostàtiques de ratolí. Per demostrar que els ratolins no presenten cap alteració des dels començament.

- El **control Positiu**: quatre ratolins de la investigació amb cèl·lules cancerígenes prostàtiques però sense la injecció de la vacuna de DNA. Per veure com es l'evolució del càncer de pròstata sense la variable independent (les vacunes de DNA) i veure si la variable independent realment és efectiva.

Per tant, vuit ratolins dels seixanta quatre formaven part del control de l'experimentació.

5.2. Rèplica:

És la **repetició** idèntica de l'experimentació amb les mateixes variables independents, dependents, controlades i controls.

La rèplica serveix per a comprovar que els resultats dels dos estudis són relativament semblants i per tant, demostrar que no han sigut altres factors els que han afectat als resultats de l'estudi.

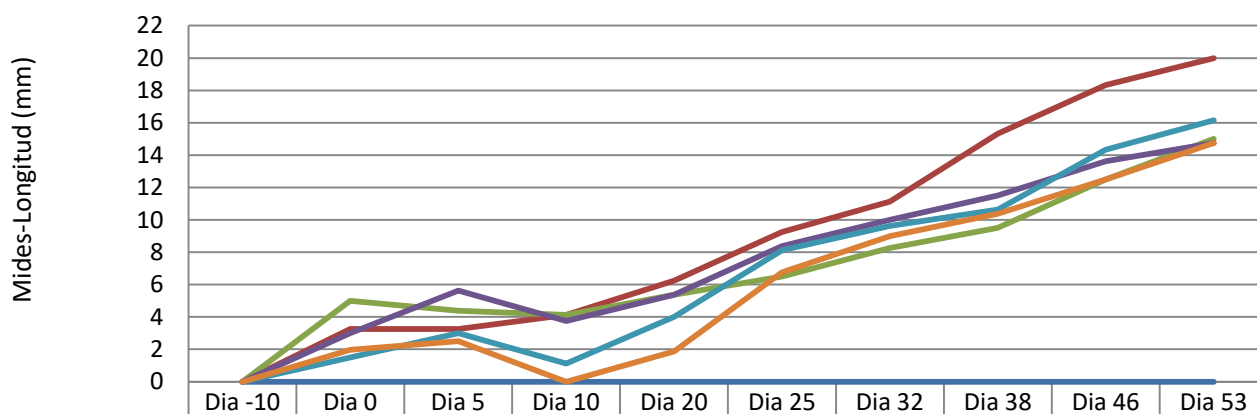
- En el cas d'aquesta investigació s'ha fet un rèplica de la primera part de la investigació. L'any passat es va fer el primer estudi amb 64 ratolins i aquest any s'ha fet la rèplica amb 64 ratolins.

L'experiment, amb la seva respectiva rèplica, va comptar amb 128 ratolins més 4 que tenien de reserva, per tant, 132 ratolins emprats.

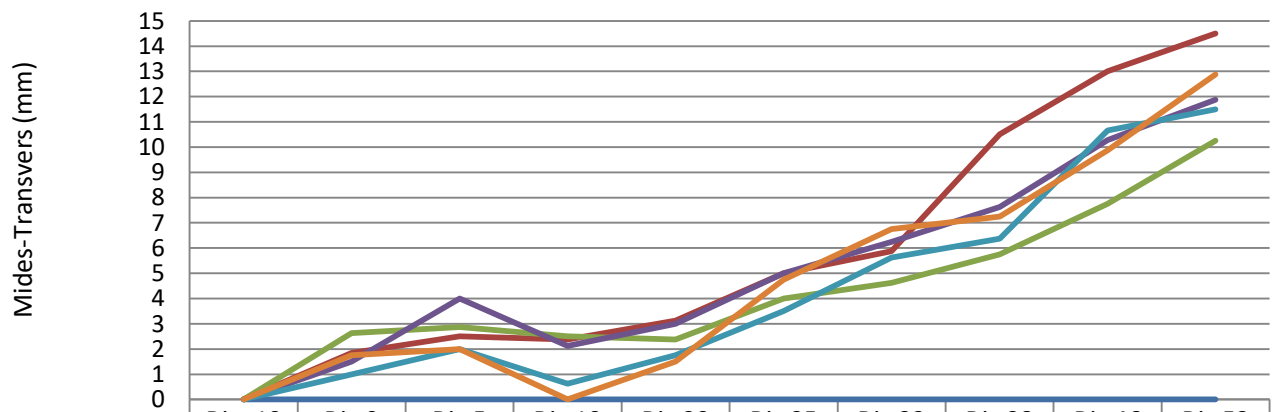
6. Resultats de l'experimentació:

- Aquest gràfic s'ha creat a partir de les mides dels tumors dels ratolins de la investigació real que la UAB em va proporcionar. Indica l'evolució de la mitja (basada en la allargada en mm) de les mides dels tumors prostàtics dels diferents grups de ratolins tenint en compte els dos controls.
- Aquestes dades s'han obtingut a partir de fer la mitja per dia d'observació de les mides en **longitud** del tumors per cada grup de 4 ratolins amb la seva respectiva vacuna o control.
- Com s'ha esmentat abans el dia -10 és quan se'ls injecta als ratolins les cèl·lules cancerígenes.
- Durant els dies **0 i 5** es pot observar que tots els valors al principi augmenten ràpidament però al dia **10** han disminuït. Aquest fet és degut a que el que es mesurava els primers dies no era el tumor ja desenvolupat, sinó que era la inflamació de la pell dels ratolins per la injecció de les cèl·lules cancerígenes.
- Els dies 38 i 53 en el grup de **Control Positiu** es determina **Criteri de Punt Final** a dos ratolins, per tant, són eliminats de l'estudi i la mitja de les mides dels tumors augmenta.
- El dia 46 a la **vacuna 3** es determina també **Criteri de Punt Final** i augmenta la mitja de la mida dels tumors, quedant la segona més alta.
- En el gràfic es pot veure que les vacunes amb la **mitja** de mides **tumorals més baixa** són la **2 i la 4**.

Mitges-Mides tumors: Longitud

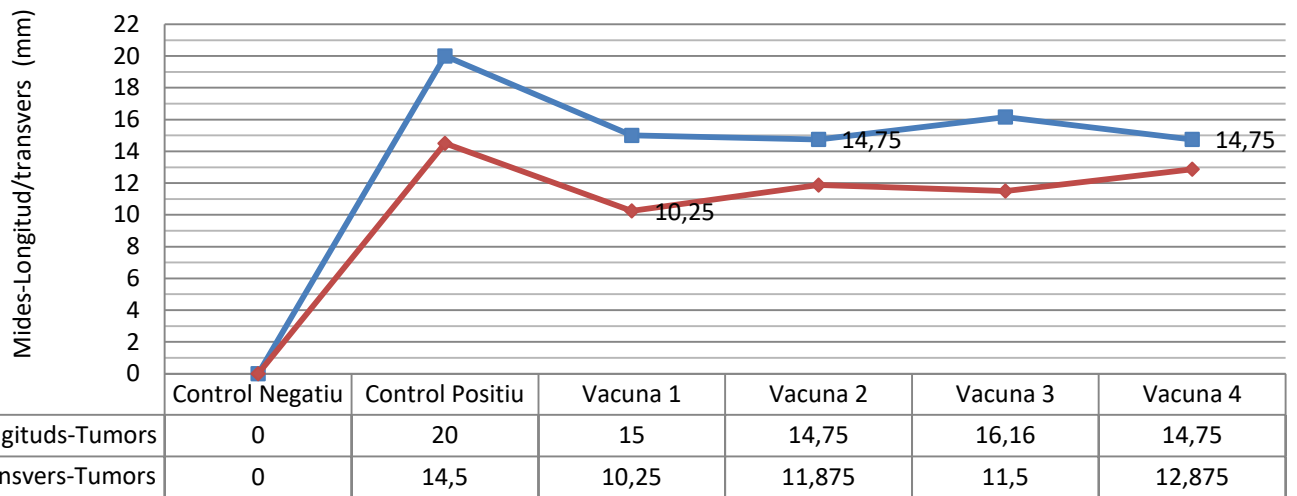


Mitges-Mides tumors: Transvers



- Aquest gràfic indica l'evolució de la mitja(basada en el transvers en mm) de les mides dels tumors dels diferents grups de ratolins tenint en compte els dos controls.
- Aquestes dades s'han obtingut fent la mitja per dia d'observació de les mides en **transvers** dels tumors per cada grup de 4 ratolins amb la seva respectiva vacuna o control.
- Com en l'anterior gràfic es pot veure que el fet de la inflamació de la pell dels ratolins també va afectar a l'hora de mesurar el transvers dels tumors. Es veu un clar augment de les mitges en els dies 0 i 5 però en el dia 10 les mitges disminueixen.
- Els **Criteris de Punt Final** són els mateixos que els del anterior gràfic ja que són les mesures dels mateixos ratolins, per tant, el **control Positiu** i la **vacuna 3** el valor dels seus resultats augmenten.
- En aquest cas es pot veure una anomalia que en l'altre gràfic no es presentava. La **vacuna 4** presenta un **augment més dràstic** en la mitja de transvers quedant la **segona mitja més alta** després del Control Positiu.
- En aquest cas la vacuna amb la **mitja tumoral més baixa** ha sigut la **vacuna 1**.

Mitges Finals longitud/transvers tumors- Dia 53



Aquest gràfic representa la mitja tumoral de l'últim dia d'estudi de cada grup.

*En color blau es troben les mitges de les mesures tumorals en longitud de l'últim dia d'experimentació de tots els grups de ratolins.

*En color vermell són les mitges de les mesures tumorals en transvers de l'últim dia de la investigació de tots els grups de ratolins.

- En aquest gràfic es veu més clarament que les mitges tumorals en longitud més baixes són les de las vacunes 2 i 4.

- En el cas del transvers es veu que la mitja més baixa és la de la vacuna 1.

- Per tant, no hi ha cap vacuna que tingui a la vegada les mitges tumorals en longitud i transvers més baixes. Fet que complica l'elecció de decidir quina vacuna podria ser la més adequada.

-També es pot veure que en **longitud i transvers** la **mitja més alta** en els dos casos es la del **Control Positiu**, per tant, és un signe de que les vacunes de DNA fan algun tipus d'efecte a les cèl·lules cancerígenes prostàtiques.

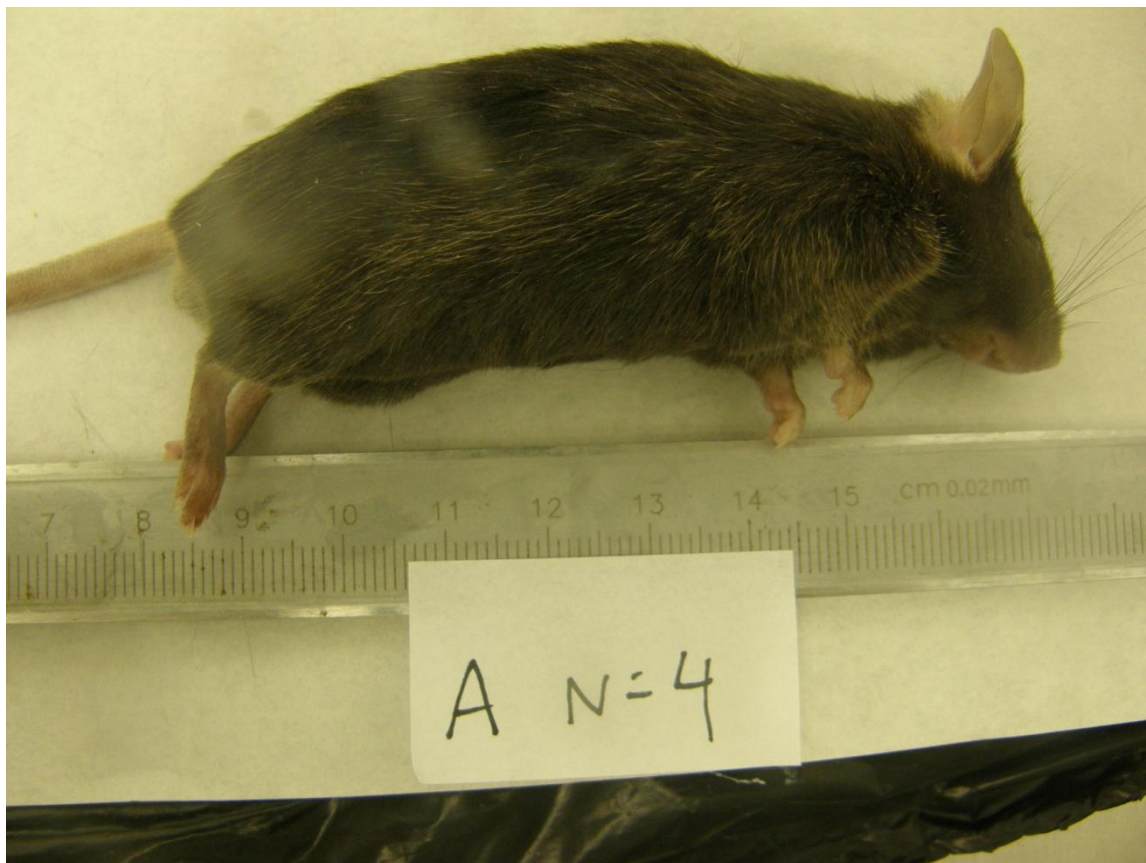
- **Eutanàsia dels ratolins:**

Després d'haver mesurat els tumors de tots els ratolins de la investigació l'últim dia d'investigació aquests són eutanasiats.

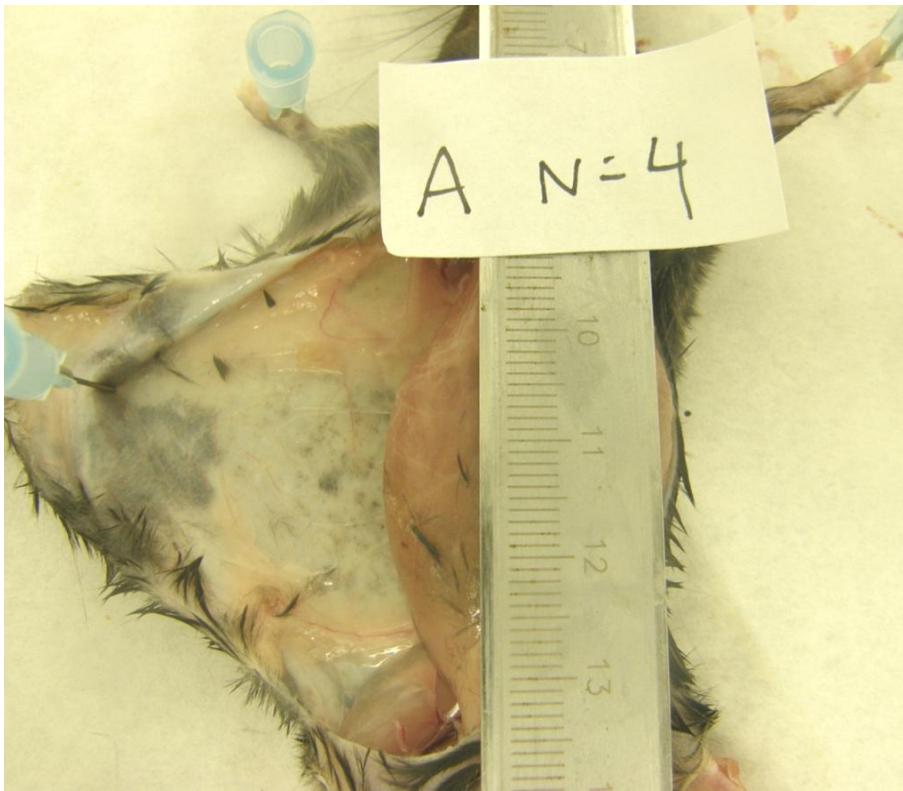
L'eutanàsia és provocar-li la mort a un animal o persona perquè aquesta té una malaltia incurable o molt desenvolupada i aquesta malaltia fa patir un mal innecessari que no es pot tractar i, per tant, es provoca la mort a l'afectat per a que no segueixi patint.

En aquesta investigació tots els ratolins amb cèl·lules cancerígens van ser eutanasiats, ja que no se'ls podria curar el càncer i si se'ls hagués deixat vius només haguessin patit més dolor, el qual és incurable.

Per tant, és més ètic eutanasiar-los per a que els ratolins deixin de patir un dolor innecessari. A més a més, se'ls hi extirpa el tumor per fer unes mesures en tres dimensions més exactes.

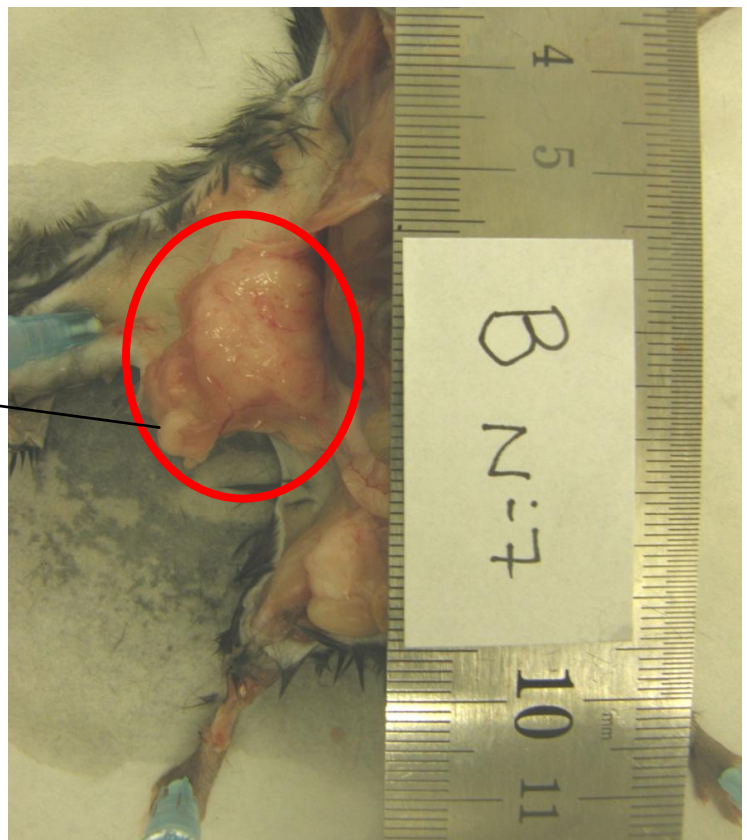


“Ratolí del Control negatiu mort (no presenta cap tumor exteriorment).”



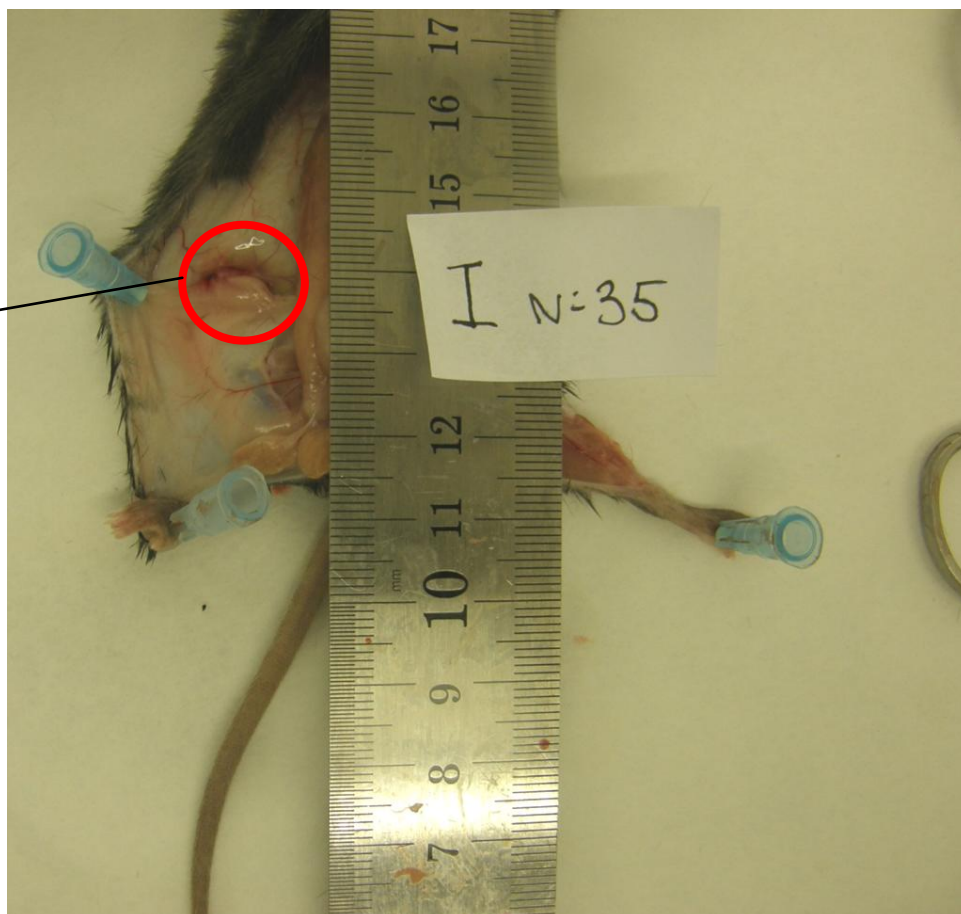
“Ratolí eutanasiat del **Control negatiu** (no presenta cap tumor en el seu interior).”

Tumor prostàtic subcutani.

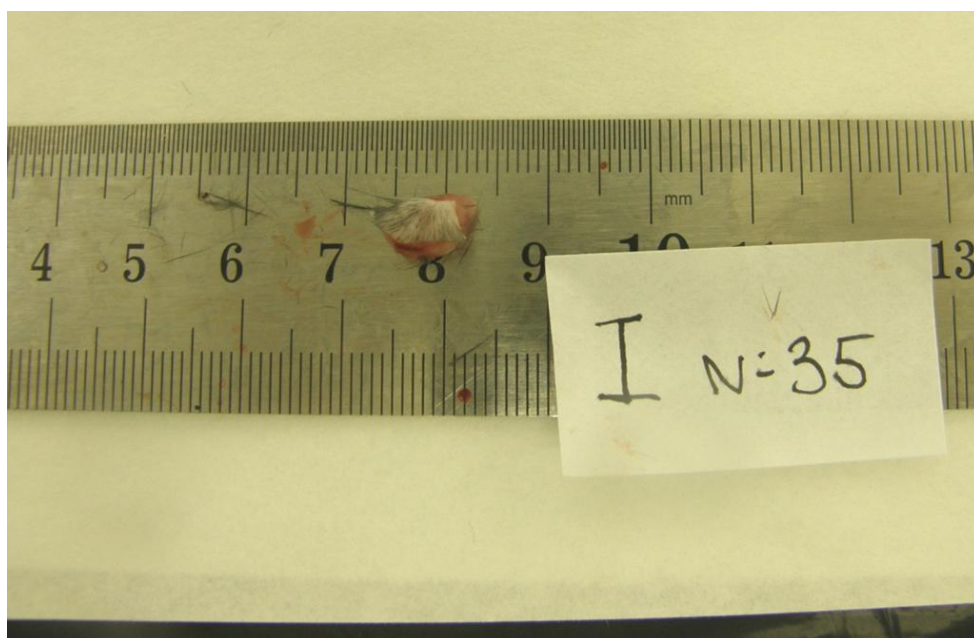


“Ratolí eutanasiat del **Control Positiu** (presenta un tumor subcutani).”

Tumor prostàtic
subcutani amb
els efectes de la
vacuna de DNA.



“Ratolí amb la **vacuna 1** eutanasiat (presenta un tumor
subcutani).”



or prostàtic de ratolí amb la **vacuna 1** extirpat”

7. Conclusions de l'estudi:

És l'última fase del mètode experimental on s'analitzen i s'interpreten els resultats obtinguts en l'experiment.

Amb les dades reals que m'han proporcionat els investigadors d'aquest estudi, he arribat a la conclusió de que no sempre surten resultats positius i clars en les investigacions, tot lo contrari perquè sinó es tindria la cura de moltes malalties que encara no en tenen.

Moltes vegades els resultats dels estudis són confusos i fins i tot negatius, però no vol dir que d'aquesta manera no s'extregui cap tipus de nou coneixement ja que en el món de les investigacions, molts avenços importants s'han descobert gràcies a prova i error.

En el cas d'aquest gràfic s'ha pogut observar clarament que les vacunes de DNA han actuat d'alguna manera contra el tumor cancerigen perquè totes les vacunes tenen les mitges de les mides tumorals més baixes que les del Control Positiu i que es compleixi aquest fet ja confirma la hipòtesi de que:

Potser alguna vacuna amb una seqüència determinada de DNA pot evitar o disminuir el creixement del tumor i combatre el càncer de pròstata.

Però també crec que s'ha d'estudiar fins a quin punt val la pena o no aquest petit percentatge de canvi entre les mides tumorals. Ja que potser el cost per a l'elaboració de la vacuna de DNA es massa alt per al poc percentatge de diferència que provoca aquesta.

Un altre fet important que crec que s'ha de tenir en compte és que no sempre els tractaments funcionen de la mateixa durant els diferents estadis d'una malaltia, és ha dir, potser un determinat tractament és molt eficaç durant les primeres fases de l'evolució d'una malaltia però quan aquesta ja està desenvolupada, l'eficàcia del tractament és molt baixa. Aquest fet passa especialment amb el càncer, els tractaments varien molt segons en l'estadi de l'evolució en el que es trobi aquest.

Per aquesta raó he arribat a la conclusió de que sembla que per el temps que es porta amb la investigació d'aquestes vacunes de DNA en aquest estudi, tenen més efectivitat durant els primers 25 dies, ja que el creixement dels tumors durant els primers 25 dies és bastant més lent i fins i tot hi han alguns pocs ratolins que no presenten tumor o és molt petit fins passats els 25 dies.

Per contra, però, després dels primers 25 dies, les mitges de les mides tumorals de tots els ratolins en general augmenten més ràpidament.

Però si hagués d'escollir la vacuna de DNA que crec que ha sigut la més efectiva a l'hora de reduir o alentir el desenvolupament de les cèl·lules cancerígenes prostàtiques, amb l'estudi dels resultats i de les dades dels gràfics creats per mi he arribat a la conclusió de que la vacuna de DNA més efectiva seria la **vacuna 1**.

Per què la vacuna 1? Doncs perquè compta amb la mitja tumoral en transvers més baixa entre la resta de vacunes. També perquè en el grup dels quatre ratolins d'aquesta vacuna, un d'ells **no va presentar cap tumor** (només la inflamació de la pell abans esmentada en el dia 0) **fins el dia 46**. A més a més, a cap dels quatre ratolins del grup de la vacuna 1 se li va haver de determinar Criteri de Punt Final.

I per últim, la vacuna 1 ha sigut la més eficaç perquè sumant la mitja tumoral en longitud amb la mitja tumoral en transvers (les dues mitges són del grup dels 4 ratolins amb la vacuna 1 injectada), la suma de les dues mitges dona la mitja més petita entre la resta dels tumors.



Entrevista:

→ Per a complementar la meua part pràctica, gràcies al projecte Argó, vaig poder conèixer i entrevistar a Patrocinio Vergara.

Patrocinio és una llicenciada en veterinària i la seva professió actualment és la de catedràtica en la facultat de fisiologia de l' UAB i també forma part d'investigacions biomèdiques. Patri porta exercint la seva professió des de l'any 1978.

-Estàs a favor de l'experimentació animal?

-Patri: És difícil de dir. Jo crec que actualment està justificada la utilització d'animals per obtenir coneixements o cures de malalties que encara no tenen tractament. El que sí crec és que no es poden resoldre aquests dubtes només amb mètodes que no impliquin la utilització d'animals.

-Creus que els animals són necessaris per el avenç mèdic?

-Patri: En aquests moments sí, encara.

-Creus que l'experimentació animal té un ús desmesurat?

-Patri: Penso que tot pot millorar però que amb la legislació Europea que tenim aquest tema està bastant supervisat.

- L'experimentació amb animals per elaborar cosmètics és legal en Europa?

-Patri: Està prohibit, es creu que encara s'utilitzen els animals en productes cosmètics però la directiva Europea és molt clara amb aquest tema i en Espanya actualment no s'utilitzen animals per a fins cosmètics, ja no està autoritzat.

- Respecte la legislació d'animals d'experimentació, creus que ha de millorar? Per què?

-Patri: Sincerament, crec que la legislació Europea és molt bona, una altra cosa es que haguem de millorar la manera d'implementar-la i aplicar-la més i millor i fer més inspeccions, però tot el que està escrit en la llei, penso que està bé. De fet, fa poc el Parlament Europeu va revisar la directiva del 2010 i ha decidit que no requereix de canvis, per tant crec que és correcte.

-Hi ha alguna diferencia entre la legislació d'animals d'experimentació Espanyola i l'Europea, o és la mateixa?

-Patri: De fet, Espanya ha transferit la directiva Europea i té alguna diferencia formal però no de fons ni de filosofia, en aquest sentit és exactament equiparable.

-Coneixes alguna legislació d'altre país que protegeixi als animals d'experimentació que creguis que sigui millor a l'espanyola/europea?

-Patri: No, sincerament crec que la legislació Europea és de les millors i més avançades.

-Quines han sigut les pitjors condicions en las que has vist a animals d'experimentació?

-Patri: Realment, no ho sé, ja que no inspecciono experiments, però et puc dir que he format part en l'elaboració de molts experiments i també n'he vist molts i mai he sortit amb un sentiment de culpa o amb males sensacions.

-Quines diferències trobes entre la legislació d'animals d'experimentació de quan vas començar el teu ofici a la legislació actual?

-Patri: Realment quan vaig començar el meu ofici no hi havia cap legislació que protegís els animals a l'hora d'experimentar amb ells, ja que encara no s'havia creat la Constitució Espanyola. Per tant, que la utilització d'animals d'experimentació fos ètica i mesurada depenia segons el criteri dels investigadors que portaven a terme l'experiment. En canvi, actualment tenim tota una legislació molt correcta que controla tot aquest tema.

-Creus que la vacuna de DNA serà la cura del càncer?

-Patri: Crec que serà una de les possibles cures del càncer en el futur. N'hi hauran unes altres cures però la vacuna de DNA en serà una segura ja que és un molt bon mètode.

-Coneixes alguna alternativa a l'experimentació animal?

-Patri: Bueno, considero que ja actualment s'intenten impartir les alternatives que coneixem. Per exemple, el principi de les tres R's, el principi de refinament on es demana el reemplaçament dels animals sempre que es pugui. Abans de començar a experimentar amb animals sempre s'ha de tenir una base teòrica on es demostrï que l'experiment pot ser d'utilitat i sempre s'intenta experimentar primer *in vitro* i utilitzar el mínim nombre possible d'animals.

Conclusió:

Durant l'elaboració del meu treball he après moltes coses que no sabia abans i també he après que alguns fets que pensava que eren certs després d'informar-me adequadament m'he adonat de que eren falsos. Per exemple, pensava que l'experimentació animal per a fins cosmètics era legal i he acabat assabentant-me de que en Europa és totalment il·legal.

He afirmat amb la recerca d'informació que he portat a terme, que el càncer és una de les malalties més mortíferes i complexes que existeixen actualment i que encara falta temps per a que s'arribi a trobar una cura totalment eficaç per el càncer.

Per lo contrari, he après que actualment hi ha tractaments molt innovadors i que en les recerques actuals s'està investigant contínuament per a millorar els tractaments ja existents o crear-ne des nous, més efectius.

També m'he adonat de la desinformació i invisibilització que té la societat en general sobre el tema dels animals d'experimentació. M'explico, crec que molta gent no pensa en l'existència i la importància que tenen els animals d'experimentació. Crec que l'experimentació animal és un tema sobre el qual a la gent no li agrada parlar i dels que en parlen, realment pocs estan ben informats ja que s'invisibilitza per part de la societat l'existència dels experiments que es portem a terme amb animals cada any.

M'he adonat de la dificultat que es presenta a l'hora de voler començar una investigació en un centre i que realment hi ha bastants lleis i entitats que protegeixen els animals d'experimentació i els seus drets. Em sembla molt bé que hi hagi tantes reglamentacions en forma de documents per veure com serà la investigació, què es portarà a terme en ella, si realment pot aportar alguna cosa positiva, si complirà el principi de les 3 R's adequadament, si es compliran totes les normes bàsiques, etc...

He après que estem a prop però a la vegada lluny d'arribar a trobar una cura per el càncer de pròstata.

També he après que en les recerques biomèdiques, s'ha avançat molt amb tema de les modificacions genètiques amb els animals d'experimentació ja que s'ha aconseguit que el sistema immunitari dels ratolins actuï com el d'un humà.

Respecte la meua hipòtesi inicial, he canviat d'opinió ja que gràcies a l'elaboració del meu treball m'he informat de com és realment començar una investigació de manera legal. També, gràcies a que he tingut l'oportunitat de presenciar en persona el procés experimental d'una investigació real, he pogut comprovar que sí es compleixen tots els reglaments dictats per la llei i que s'intenten protegir els animals d'experimentació de la manera més eficaç possible complint estrictament el principi de les 3 R's i altres legislacions.

He pogut entrar a l'estabulari de la UAB, cosa que poca gent poc fer i he tingut la possibilitat de conèixer els reglaments i els protocols d'higiene i seguretat que s'han de portar a terme adonant-me de que realment es té cura dels animals que s'utilitzen en les experimentacions.

Tota investigació acaba amb la presa de dades obtenint uns resultats amb les seves respectives conclusions.

Jo, a l'interpretar els resultats de la investigació i arribar a una conclusió raonada, m'he adonat de que encara que el percentatge de variació en les mides dels tumors tractats amb les vacunes de DNA no sigui molt més baix que el percentatge de variació de les mides dels tumors sense tractament, s'ha presentat igualment una variació. Per aquesta raó, la utilització d'animals d'experimentació en aquesta investigació ha sigut ètica ja que l'ús dels ratolins no ha sigut en va.

Sobre el tema dels meus objectius, els he pogut complir tots ja que amb la recerca que he portat a terme he sigut capaç de canviar d'opinió i de negar la meua hipòtesi inicial.

També he pogut pensar en la pregunta principal que es fa en el treball i he pogut arribar a una conclusió raonada.

- **Són realment necessaris els animals d'experimentació?**

Al principi pensava que no es trobava recompensat el dolor i el sacrifici dels animals d'experimentació per al desenvolupament de tractaments contra malalties, però després d'informar-me adequadament sobre el tema he vist que els animals d'experimentació són necessaris per al desenvolupament de qualsevol tractament i que s'intenta que els animals siguin tractats de la manera més humanitària possible.

Per aquesta raó crec que els animals d'experimentació són realment importants, ja que gràcies a ells es pot obtenir informació beneficiosa tant per als animals com per els humans. Però trobo que no s'ha de fer un ús excessiu dels animals d'experimentació i que s'ha de treballar en la recerca de mètodes alternatius per evitar l'ús dels animals d'experimentació.

Annexos:

- ❖ **Annex 1:** Tractament - càncer de pròstata: l'espera en observació i la vigilància activa.
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/tratamiento/espera-en-observacion.html>
- ❖ **Annex 2:** Tractament - càncer de pròstata: la cirurgia.
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/tratamiento/cirurgia.html>
- ❖ **Annex 3:** Tractament - càncer de pròstata: la radioteràpia.
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/tratamiento/radioterapia.html>
- ❖ **Annex 4:** Tractament - càncer de pròstata: la crioteràpia.
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/tratamiento/criocirurgia.html>
- ❖ **Annex 5:** Tractament - càncer de pròstata: teràpia hormonal.
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/tratamiento/terapia-hormonal.html>
- ❖ **Annex 6:** Tractament - càncer de pròstata: la quimioteràpia.
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/tratamiento/quimioterapia.html>
- ❖ **Annex 7:** Transfecció i implantació del DNA (vacuna) al nucli cel·lular: la transfecció.
[https://es.wikipedia.org/wiki/Transfecci%C3%B3n#M%C3%A9todos_Biol%C3%B3gicos\[5\]%E2%80%8B](https://es.wikipedia.org/wiki/Transfecci%C3%B3n#M%C3%A9todos_Biol%C3%B3gicos[5]%E2%80%8B)
- ❖ **Annex 8:** Transfecció i implantació del DNA (vacuna) al nucli cel·lular: els liposomes.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342009000900012
- ❖ **Annex 9:** Transfecció i implantació del DNA (vacuna) al nucli cel·lular: l'electroporació. <https://en.wikipedia.org/wiki/Nucleofection>
- ❖ **Annex 10:** AMM – Declaració de Helsinki:
<https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-la-amm-sobre-el-uso-de-animales-en-la-investigacion-biomedica/>
- ❖ **Annex 11:** Legislació espanyola/europea d'animals d'experimentació: Reial Decret 53-2013. <https://www.boe.es/boe/dias/2013/02/08/pdfs/BOE-A-2013-1337.pdf>
- ❖ **Annex 12:** Legislació espanyola/europea d'animals d'experimentació: Directiva 76/768/CEE. https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/legislation_en

- ❖ **Annex 13:** El Comitè d'ètica/Comissió Ètica d'animals d'experimentació.
<http://www.boe.es/boe/dias/2013/02/08/pdfs/BOE-A-2013-1337.pdf>
- ❖ **Annex 14:** Memòria del projecte.
http://web.gencat.cat/web/shared/OVT/Departaments/TES/Documents/9455_Memoria_descriptiva_projecte_experimentacio_animals.pdf
- ❖ **Annex 15:** Memòries dels procediments.
http://web.gencat.cat/web/shared/OVT/Departaments/TES/Documents/9455_Memoria_descriptiva_procediment_experimentacio_animals.doc

Bibliografia - webgrafia:

- ❖ http://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/02/160203_cancer_graficos_impacto_men
- ❖ <https://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A1ncer>
- ❖ [https://www.news-medical.net/health/Cancer-Classification-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Cancer-Classification-(Spanish).aspx)
- ❖ <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-la-amm-sobre-el-uso-de-animales-en-la-investigacion-biomedica/>
- ❖ <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
- ❖ <https://www.wma.net/es/politicas/politicas-actuales/?text=animales&type=&year from=1981&year to=2017>
- ❖ <https://www.cancer.gov/espanol>
- ❖ <https://www.seom.org/>
- ❖ <https://www.aecc.es/SobreElCancer/elcancer/Paginas/Origendelaenfermedad.aspx>
- ❖ <https://www.aecc.es/SobreElCancer/elcancer/Paginas/Tiposdecancer.aspx>
- ❖ PDF Carcinogènesis:
https://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj45OOAs_rVAhVCJIAKHdkHAI0QFggvMAI&url=http%3A%2F%2Fwww.inen.sld.pe%2Fportal%2Fdocumentos%2Fpdf%2Feducacion%2F01102014_CARCINOGENESIS_I.PDF&usq=AFQjCNH_du_E77MMfETNbWqNgrEPHaVDMA
- ❖ https://www.cancer.gov/espanol/tipos/prostata/pro/tratamiento-prostata-pdq#link/1679_toc
- ❖ <http://www.actasdermo.org/es/el-proceso-metastasico-ii-diseminacion/articulo/13003498/>
- ❖ <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/tratamiento.html>
- ❖ <https://www.genome.gov/>

- ❖ https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_vaccination#Delivery
- ❖ http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/foreword
- ❖ **PDF:** El modelo animal en las investigaciones biomédicas Dra. Silvia.
https://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiDj5WxzZbYAhVJzxQKHVn1A_4QFggoMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.um.edu.uy%2Fdocs%2Frevistabiomedicina%2F2-3%2Fmodelo.pdf&usg=AOvVaw3BIRL1Jmn0nbVxj69bB-PK
- ❖ <https://es.scribd.com/doc/95654807/Tema-1-Modelos-Animales-1>
- ❖ https://estabulari.uab.cat/#!/Presentaci%C3%B3_39_1
- ❖ <http://www.uib.es/es/recerca/estructures/comissions/ceea/>
- ❖ <http://web.gencat.cat/ca/tramits/tramits-temes/Projectes-dexperimentacio-amb-animals-autoritacions-i-comunicacions?category=75b636d8-a82c-11e3-a972-000c29052e2c&moda=1>
- ❖ <https://www.nc3rs.org.uk/grimacescales>
- ❖ **PDF:** MOUSE GRIMACE SCALE (MGS): THE MANUAL
<https://www.nc3rs.org.uk/sites/default/files/documents/Guidelines/MGS%20Manual.pdf>
- ❖ <http://oep.umh.es/tag/criterios-de-punto-final/>
- ❖ http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion_Flujo_Laminar&opc=tecnicas&idap=68
- ❖ <http://animec-tokyo.sakura.ne.jp/products/TECNIPLAST/IVC/indice1.html>
- ❖ https://en.wikipedia.org/wiki/Nude_mouse
- ❖ https://en.wikipedia.org/wiki/Humanized_mouse
- ❖ <http://gtt-vih.org/book/print/7484>
- ❖ <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Entra-en-vigor-en-la-UE-la-prohibicion-de-experimentacion-animal-con-fines-cosmeticos>
- ❖ Llibres 1r/2n Bachillerat Biologia – Grup Promotor.

Agraiments:

Primerament, m'agradaria agrair al tutor del meu treball de recerca, per animar-me a que em presentés al projecte Argó de la UAB. També agraeixo la seva ajuda, la seva implicació i els seus consells per l'elaboració del meu treball ja que han sigut de molta ajuda a l'hora de complementar i enllestir el treball.

Per un altre banda, agraeixo al equip que s'encarrega de dirigir el Projecte Argó de la UAB per haver-me seleccionat i així poder gaudir d'aquesta experiència.

Per últim, vull agrair l'ajuda que m'ha proporcionat la Patrocinio des del primer dia i per acceptar a ser entrevistada per mi. I vull donar-li les gràcies a la Sara i al la resta d'investigadors de la investigació a la que vaig poder assistir, per també haver-me ajudat amb tot el tema dels documents i per explicar-me el funcionament d'un procés d'investigació en un estabulari.

