

ANEXA 4

la norma sanitară veterinară

REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

T

Titlul proiectului	„Oncoimunoterapia cu celule Natural Killer purtătoare de receptori chimerici de antigen”	
Durata proiectului	01.09.2016 – 31.08.2020	
Cuvinte-cheie (maximum 5)*1	Imunoterapie, celule Natural Killer, celule tumorale CD19+, limfocite B	
Scopul proiectului Analiza eficacității diferitelor celule antiCD19 CAR-NK pe modele murine de leucemie umană cu limfocite B (M24-M30)	Cercetare de bază*2	da x nu
	Bioechivalență cercetare translațională și cercetare aplicata	da x nu
	Utilizare regulată și producții de rutină	da x nu
	Protecția mediului înconjurător în interesul sănătății și bunăstării oamenilor sau animalelor	da x nu
	Conservarea speciilor	da x nu
	Invatamant superior si instruire	da x nu
	Anchete medico-legale	da x nu
	Menținerea coloniilor cu animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri	da x nu
Descrierea obiectivelor proiectului	<ul style="list-style-type: none"> • Crearea unui nucleu de competență științifică de înalt nivel în onco-imunologie, având la bază ingineria celulelor NK și generarea de constructe CAR-NK pentru tratamentul cancerului. • Dezvoltarea de resurse umane competitive în cercetare și crearea unui mediu de cercetare dinamic pornind de la resursa umană actuală a centrului la care se vor adăuga noi locuri de muncă pentru cercetători postdoctorali, doctoranzi, și tehnicieni de laborator. • Dezvoltarea unui prototip experimental de celule CAR-NK capabile să recunoască și să distrugă celulele tumorale în mod specific. • Asigurarea transferului de competențe între mediul academic și cel industrial. • Asigurarea transferului rezultatelor proiectului în economie prin două brevete bazate pe generarea de constructe CAR-NK, cu perspective de dezvoltare 	

	<ul style="list-style-type: none"> Promovarea Cercetării Calitative, prin prezentarea rezultatelor proiectului în 6 lucrări științifice publicate și prin depunerea a cel puțin unei aplicații la programul Horizon 2020 în timpul celor 48 de luni ale proiectului CAR-NK.
Care sunt potențialele beneficii aduse de către proiect (cum ar putea avansa informațiile științifice sau oamenii ori cum ar putea animalele beneficia de rezultatele acestuia)?	<p>Potențialii beneficiari sunt Centrul Oncogen, pacienții oncologi, familiile acestora, personalul medical, sistemului de sănătate publică, cercetători postdoctoral și doctoranzi.</p> <p>Implementarea cu succes a acestui proiect va asigura cunoștințele necesare pentru dezvoltarea de servicii de medicină personalizată, care vor putea fi oferite pacienților oncologici după încheierea proiectului.</p>
Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat?	Soareci (NOD-SCID) – 100 soareci
În contextul aspectelor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradul de severitate așteptat/probabil și care va fi finalul animalelor;	Starea de sanătate a animalelor va fi monitorizata zilnic de personalul de specialitate si periodic prin analize de laborator. La sfârșitul experimentelor, animalele vor fi eutanasiate dacă nu mai trebuie urmărite. Tehnicile de eutanasiere vor fi specifice speciei si trebuie să aibă ca rezultat o pierdere rapidă a cunoștinței urmată de stop cardiac sau stop respirator si în final încetarea funcției cerebrale.
Aplicarea conceptului 3R	<p>Deoarece proiectul implică experimente pe animale, cercetătorii recunosc regula celor „3R” în elaborarea protocoalelor de studiu: Reducere, Refacere, Rafinare. Pe aceste premise, numărul animalelor va fi menținut la o valoare cât mai mică, dacă nu există o altă alternativă pentru utilizarea acestora. Toate animalele de experiență vor dispune de adăpost, hrană, apă și îngrijiri în funcție de starea lor de sănătate și dispoziție. De asemenea, ele vor dispune de condiții de mediu adecvate și vor fi verificați periodic. Distribuitorul de animale va fi o companie/facilitate de animale certificată comercial. Spațiile destinate creșterii soarecilor permit o separare adecvata a activitatilor, respectiv intretinere, carantina, creștere, gazduirea animalelor pe durata experimentarilor, efectuarea procedurilor experimentale. Animalele vor fi gazduite în custi conforme cu reglementarile legale de asigurare a spatiului. Accesul la hrana si apa va fi liber. Hrana la soareci va fi administrata sub forma de nutret combinat granulat, ad libitum. Condițiile specifice de mediu (temperatura, umiditate, schimburi de aer) sunt asigurate de statii complexe de climatizare, centrala termica, centrala de abur, apa calda si de caldura. Iluminarea artificiala asigura un ciclu de 12 ore lumina/12 ore intuneric. Starea de sanătate a animalelor va fi monitorizata zilnic de personalul de specialitate si periodic prin analize de laborator. La sfârșitul experimentelor, animalele vor fi eutanasiate dacă nu mai trebuie urmărite.</p>

	trebuie urmărite.
Înlocuire Precizați de ce trebuie utilizate animale, și nu alte metode alternative	Analiza eficacității CAR-NK care conțin lanțul gamma comun IL2/IL15 pe un model murin de leucemie cu limfocite B (M42-M48) Pentru a analiza dacă CAR conținând lanțul gamma comun IL2/IL15 duc la expansiunea <i>in vivo</i> a celulelor CAR-NK după activarea cu antigenul tumoral corespunzător, vom analiza expansiunea și potența celulelor CAR-NK generate în șoareci NOD-SCID, stimulați cu o linie leucemică CD19+ prin injecția intraperitoneală a 1×10^6 celule leucemice. 5 șoareci per grup vor fi tratați cu cantități crescânde de celule CAR-NK cu sau fără lanțul gamma comun (control). La 1 zi după provocarea cu blastii leucemici se vor administra intraperitoneal următoarele doze de celule CAR-NK: 1×10^6 ; 5×10^6 ; 1×10^7 ; 5×10^7 ; 8 șoareci per grup. Se va recolta lichid peritoneal de la 3 șoareci per grup după sacrificarea la 4 săptămâni după tratament, prin spălarea peritoneului, iar încărcarea tumorală și frecvența celulelor NK vor fi determinate prin histochimie și analiză FACS. Cei 5 șoareci care rămân din fiecare grup vor fi păstrați în viață până la apariția semnelor de progresie tumorală.
Reducere Cum vă asigurați că numărul de animale utilizat este minim?	Pentru evitarea repetării inutile a experimentelor ce au același scop, ori de câte ori se consideră oportun, vor fi recunoscute și luate în considerare rezultatele deja obținute în experimente ce au fost desfășurate, cu condiția ca procedurile folosite să fie identice sau similare.
Îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire și utilizare a animalelor în proceduri. Explicați alegerea speciilor și de ce modelul de animale utilizate este cel mai potrivit ales, având în vedere obiectivele științifice. Explicați măsurile generale care trebuie luate pentru a minimiza răul produs animalelor.	Alegerea soarecilor NOD-SCID face obiectul unei evaluări atente a problemei urmărite respectiv pentru a analiza dacă CAR conținând lanțul gamma comun IL2/IL15 duc la expansiunea <i>in vivo</i> a celulelor CAR-NK. Reducerea numărului de animale utilizate la minimum asigură calitatea și integritatea rezultatelor. Experimentul efectuat necesită un număr mic de animale și implică utilizarea animalelor care au cel mai scăzut grad de sensibilitate neurofiziologică, care produc cea mai mică durere, suferință, chinuri și vătămări durabile și pentru care sunt cele mai mari șanse de a obține rezultate satisfăcătoare. Soarecii vor beneficia de îngrijire și tratament adecvate. Vor fi adăpostiti în cuști suficient de mari și într-un mediu adaptat speciei, în conformitate cu standardele în vigoare. Metodele de ucidere folosite vor limita durerea, suferința și stresul resimțite de animale. Persoana responsabilă de bunăstarea animalelor va consilia personalul cu privire la bunăstarea animalelor în timpul achiziției, adăpostirii, îngrijirii și utilizării acestora; urmări evoluția și rezultatele proiectelor ținând cont de efectul acestora asupra animalelor folosite în experimente, identificând elementele ce contribuie și mai mult la înlocuirea, reducerea și îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire și utilizare a animalelor în experimente.

ST

*1) În funcție de denumirea proiectului se precizează maximum 5 cuvinte-cheie reprezentative.

*2) Se va menționa da sau nu.