

## REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

|                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|
| Titlul proiectului                                                                                                                                                               | AMPK – comutator între metabolismul glucidic și lipidic ca țintă terapeutică                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |    |
| Durata proiectului                                                                                                                                                               | 4 luni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |    |
| Cuvinte-cheie (maximum 5) <sup>1</sup>                                                                                                                                           | AMPK, metformin, haloperidol, SRO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |    |
| Scopul proiectului                                                                                                                                                               | Cercetare de bază <sup>2</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | DA |    |
|                                                                                                                                                                                  | Bioechivalență cercetare translațională și cercetare aplicată                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    | NU |
|                                                                                                                                                                                  | Utilizare regulată și producții de rutină                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |    | NU |
|                                                                                                                                                                                  | Protecția mediului înconjurător în interesul sănătății și bunăstării oamenilor sau animalelor                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    | NU |
|                                                                                                                                                                                  | Conservarea speciilor                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    | NU |
|                                                                                                                                                                                  | Învățământ superior și instruire                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    | NU |
|                                                                                                                                                                                  | Anchete medico-legale                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    | NU |
|                                                                                                                                                                                  | Mentținerea coloniilor cu animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    | NU |
| Descrierea obiectivelor proiectului                                                                                                                                              | <p>În cadrul proiectului va fi studiat:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. efectul modulatorilor protein kinazei 5' AMP-activate (AMPK), precum metformina, AICAR, asupra producției de specii reactive de oxigen (SRO) rezultate în urma efortului fizic (înot/alergare pe bandă),</li> <li>2. beneficiul adus de co-administrarea modulatorilor de AMPK, în contracararea efectelor secundare ale neurolepticelor (efecte secundare apărute ca urmare a generării de specii reactive), prin compararea unor markeri ai stresului oxidativ respectiv,</li> <li>3. beneficiul adus de modulatorii AMPK ca premedicație în ischemie cerebrală la șobolanii tratați față de lotul control.</li> </ol> <p>Evaluarea beneficiului produs de activarea AMPK se va face prin cuantificarea următorilor descriptori cantitativi – determinarea AMPK în mușchiul scheletic (ELISA), dozarea colesterolului total și a fracției LDL, determinarea nivelului de produși de peroxidare lipidică, malondialdehida, nivelul de nitrați respectiv nitriți iar ulterior se va realiza cuantificarea nivelului trofinelor derivate din creier (BDNF) și a caspazei 8 pentru cuantificarea gradului de apoptoză prin metode ELISA.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |    |
| 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>Se dorește o clarificare a legăturii între catabolismul generat de efortul fizic și potențialul dopant al activatorilor AMPK prin prisma modulării stresului oxidativ și a capacității antioxidante, o evidențiere a efectelor metabolice și adaptogene ale agenților farmacologici activatori ai AMPK dar și dezvoltarea unor metodologii de cuantificare a efectelor de tip pro/antioxidant implicate în posibilul efect anti-aging.</p> <p>De asemenea, se dorește evaluarea rolului și beneficiul adus prin activarea AMPK în cazul co-administrării haloperidolului, care este un generator de specii reactive de oxigen la nivel central, fiind capabil de distrucție neuronală, amplificând simptomatologia pseudoparkinsonismului iatrogen.</p> <p>În tratament cronic cu haloperidol, funcția cognitivă este alterată iar acest fapt are posibilă explicație reducerea barierei antioxidante și a markerilor neurotrofici cu repercusiuni asupra caracteristicilor normale ale celulelor neuronale și cu apariția modificărilor în zone ale creierului legate de memorie, cum sunt zona corticală și hipocampală.</p> <p>Ischemia cerebrală este un fenomen cauzator de moarte sau dizabilități iar activarea AMPK a fost descrisă ca unul dintre mecanismele farmacologice care explică acțiunea metforminei și care duc la efecte neuroprotectoare. În acest sens se formulează ipoteza că prin folosirea modulatorilor AMPK se poate realiza un control asupra stresului oxidativ și din acest motiv, se poate utiliza metformina, care se presupune că are efect antiinflamator, mediat de AMPK cu împiedicarea demielinizării și cu favorizarea creșterii expresiei factorilor neurotrofici, protejând astfel oligodendrocitele, celule responsabile de producerea și menținerea strânsă a tecii de mielină în jurul axonilor și de transmiterea saltatorie a semnalului electric.</p> |    |    |
| Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat?                                                                                       | 140 șobolani Wistar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |    |
| În contextul aspectelor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradul de severitate așteptat/probabil și care va fi finalul animalelor;                    | <p>Procedurile implicate în proiect provoacă durere minimă, intervențiile precum administrarea substanțelor medicamentoase, prelevarea probelor de sânge și metoda de anestezie fiind considerate având grad de severitate „superficial”. Se respectă normele de anti- și aseptie pentru evitarea infecțiilor. La sfârșitul experimentului animalele vor fi eutanasiate în anestezie generală cu izofluran, când li se va recolta sângele în vederea analizării iar animalele vor muri prin șoc hipovolemic.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |    |
| Aplicarea conceptului 3R                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |    |
| Înlocuire                                                                                                                                                                        | Studiile asupra metabolismului precum și cele comportamentale nu permit                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Precizați de ce trebuie utilizate animale, și nu alte metode alternative.                                                                                                                                                                                                                                                                | utilizarea unor modele experimentale in vitro (culturi celulare) sau in silico (modele matematice). Nu există posibilitatea înlocuirii animalelor de experiență.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Reducere<br>Cum vă asigurați că numărul de animale utilizat este minim?                                                                                                                                                                                                                                                                  | În studiu se va folosi numărul minim de animale necesar pentru a obține rezultate interpretabile din punct de vedere statistic ținând cont de riscul de mortalitate care poate surveni în timpul experimentelor. Numărul a fost stabilit după un proces laborios de cercetare bibliografică.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire și utilizare a animalelor în proceduri<br>Explicați alegerea speciilor și de ce modelul de animale utilizate este cel mai potrivit ales, având în vedere obiectivele științifice.<br>Explicați măsurile generale care trebuie luate pentru a minimiza răul produs animalelor. | Animalele vor fi adăpostite în cuști din polycarbonat, menținute la temperatură de confort de 21-22°C, umiditate 40-60%, ciclu lumină-întuneric 12h/12h. Animalele din lotul martor fi hrănite cu hrană standardizată și vor primi apă <i>ad libitum</i> .<br>Animalele vor fi manipulate de personal calificat.<br>A fost ales șobolanul ca specie experimentală deoarece este accesibilă și din punct de vedere economic sunt mai ușor de întreținut comparativ cu alte specii și poate oferi rezultate ce pot fi extrapolate la specia umană.<br>Enzimele studiate și procesele metabolice evaluate sunt similare între cele două specii astfel încât la sfârșitul studiului toate rezultatele pot fi extrapolate la specia umană putându-se aprecia modul în care modulatorii de AMPK pot preveni apariția unor efecte care pot fi corelate cu gradul de stres oxidativ. |