

REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

Titlul proiectului	Evaluarea strategiilor moleculare pentru a controla dislipidemia aterogenă prin modularea expresiei microARN
Durata proiectului	18 luni
Cuvinte-cheie (maximum 5)	microARN, dislipidemie, ateroscleroză, terapie moleculară, bioinformatică
Scopul proiectului	☒ Cercetare de bază ☐ Bioechivalență cercetare translațională și cercetare aplicată ☐ Utilizare regulată și producții de rutină ☐ Protecția mediului înconjurător în interesul sănătății și bunăstării oamenilor sau animalelor ☐ Conservarea speciilor ☐ Învățământ superior și instruire ☐ Anchete medico-legale ☐ Menținerea coloniilor cu animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri
Descrierea obiectivelor proiectului	Scopul principal al acestui proiect este evaluarea terapiilor moleculare pentru dislipidemia aterogenă prin modularea <i>in vivo</i> a expresiei unor microARN specifice. Studiul presupune administrarea unei diete hiperlipidemice animalelor de experiment (4-8 săptămâni), urmată de tratamentul cu inhibitori <i>in vivo</i> pentru microARN, bazați pe tehnologia LNA (lock nucleic acid), durabili și înalt specifici, care pot modula dislipidemia.
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)?	Prezentul proiect va evalua efectul inhibiției specifice <i>in vivo</i> a unor microARN în controlul metabolismului lipidic tisular sau celular, putând oferi o nouă clasă de agenți terapeutici. Dacă se va reuși, crearea în viitor de agenți farmacologici pentru controlul efectelor cardio-microARN prin utilizarea de inhibitori <i>in vivo</i> anti-microARN poate asigura controlul dislipidemiei aterogene, oferind o nouă clasă de agenți terapeutici. Studiul pe model animal constituie o etapă intermediară necesară în direcția extrapolării rezultatelor terapiei anti-microARN la organismul uman.
Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat?	Specia utilizată este Hamsterul Sirian Auriu (<i>Mesocricetus auratus</i>). Numărul de hamsteri va fi 30, împărțiți în 5 subgrupe a câte 6 animale.
În contextul aspectelor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradul de severitate așteptat/probabil și care va fi finalul animalelor?	Administrarea unei diete grase aterogene duce la creșterea nivelului lipidelor serice și formarea de leziuni aterosclerotice pe arterele coronare și aortă, însă aceste modificări patologice nu ating un nivel care să pună în pericol viața animalelor pe durata de experiment prevăzută în proiect. Tratamentul cu inhibitori anti-microARN va fi de scurtă durată, în doze testate și recomandate de producător (Exiqon, Danemercă). La final, sacrificarea animalelor va surveni prin aducerea animalelor în starea de inconștiență cu sedare prealabilă (anestezie generală) și confirmarea încetării permanente a circulației sanguine. Animalele nu vor redeveni conștiente înaintea morții. Moartea animalelor ca punct final al procedurilor prevăzute nu poate fi evitată, deoarece obiectivele proiectului implică analiza din punct de vedere genetic (miRNA, mRNA), biochimic și imunohistochimic a unor organe (intestin subțire, ficat, cord, artera aortă) prelevate de la acestea.
Aplicarea conceptului 3R	
Înlocuire Precizați de ce trebuie utilizate	Prezentul proiect își propune să evalueze efectul inhibiției <i>in vivo</i> a unor miRNA specifice în controlul metabolismului lipidic tisular sau celular, oferind

animale, și nu alte metode alternative.	o nouă clasă de agenți terapeutici. Acest studiu se poate realiza numai pe organisme vii supuse unei diete grase și unor tratamente specifice, pentru anumite intervale de timp.
Reducere Cum vă asigurați că numărul de animale utilizat este minim?	Alegerea numărului de animale se bazează pe experiența anterioară în lucrul cu acest model experimental animal. Pentru folosirea cu maximă eficiență a animalelor de experiment, am optat pentru desfășurarea studiului într-un anumit sezon al anului, optim pentru activitatea metabolică a speciei. În plus, s-a optat pentru un număr de animale per grup care reprezintă minimul necesar pentru o analiză și o semnificație statistică valabilă, necesară validării efectelor observate și publicării rezultatelor preconizate a se obține în reviste de specialitate indexate în baza de date ISI Thomson.
Îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire și utilizare a animalelor în procedură	Animalele utilizate vor fi crescute, adăpostite și îngrijite în condiții de control microbiologic moderat, în cuști ventilate individual, asigurând constante temperatura și umiditatea în micromediu, iar schimbările de așternut se fac astfel încât acesta să fie uscat și să se păstreze concentrații foarte scăzute de amoniac la nivelul micromediului. Animalele vor avea acces <i>ad libitum</i> la hrană și apă. Fiind animale sociale, hamsterii vor fi grupați câte 3-5 per cușcă după întărcare, asigurându-se însă și suprafața necesară per hamster în funcție de categoria de greutate a acestora. Cazarea în condiții de control microbiologic moderat al animalelor, la standardele recomandate, permite o refacere rapidă după procedurile de experimentare.
Explicați alegerea speciilor și de ce modelul de animale utilizate este cel mai potrivit ales, având în vedere obiectivele științifice.	Hamsterul posedă un metabolism lipidic mult mai apropiat de cel uman, comparativ cu alte rozătoare. Astfel, hamsterii prezintă lipoproteine de joasă densitate (LDL) ca transportori de colesterol în circulație, sintetizează enzima de transfer a esterilor de colesterol (dar nu la șoareci și șobolani), precum și alte enzime implicate în metabolismul biliar, similar cu omul. Hamsterul dezvoltă plăci aterosclerotice ca răspuns la dieta hiperlipidemică, cu localizare în zonele pro-aterogene similare speciei umane. Inhibiția specifică <i>in vivo</i> a unor microARN poate induce modularea unor gene implicate în metabolismul lipidic cu efect în corecția dislipidemiei.
Explicați măsurile generale care trebuie luate pentru a minimiza răul produs animalelor.	Pentru a reduce la un minim posibil durata și intensitatea suferinței animalelor, vom folosi în acest proiect: • Formule standard recomandate de anestezie simplă sau mixtă; • Utilizarea cutiei cu întuneric la anestezie; • Utilizarea saltelei cu încălzire pentru compensarea hipotermiei induse de anestezie; • Respirația artificială (când este cazul); • Rehidratarea (când este cazul); • Metode neinvazive de recoltare a sângelui; • Metode de analiză micro-cantitative pentru parametrii biochimici sau epigenetici (microARN circulant), volumul de sânge recoltat fiind minimal (sub 500 μl); • Tratament de scurtă durată administrat prin injecție intra-peritoneală într-un volum minimal (aprox. 50-100 μl).