

ANEXA 4

la norma sanitară veterinară

REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

Titlul proiectului	„Dezvoltarea de BIONanotehnologii bazate pe Veziculele Extracelulare, aplicabile în diagnosticul precoce, prognosticul și terapia bolii Aterosclerotice (BIOVEA)”, proiect component 3 – “Stabilirea unei surse celulare optime pentru generarea <i>in vitro</i> de vezicule extracelulare, cu potențial terapeutic în boala aterosclerotică coronariană”	
Durata proiectului	31.03.2018 – 31.12.2020	
Cuvinte-cheie (maximum 5)*1	Vezicule extracelulare (VEC), celule stem mezenchimale (MSCs), măduva osoasă hematogenă, țesut adipos, boala aterosclerotică	
Scopul proiectului	Cercetare de bază*2	da x nu
Obținerea veziculelor extracelulare din celule stem mezenchimale (MSCs și ADSCs) în vederea translatării rezultatelor obținute pe modelul animal de hamster în tratamentul / prevenția bolii aterosclerotice	Bioechivalență cercetare translațională și cercetare aplicata	da x nu
	Utilizare regulată și producții de rutină	da nu x
	Protecția mediului înconjurător în interesul sănătății și bunăstării oamenilor sau animalelor	da x nu
	Conservarea speciilor	da nu x
	Invatamant superior si instruire	da x nu
	Anchete medico-legale	da nu x
	Menținerea coloniilor cu animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri	da nu x
Descrierea obiectivelor proiectului	<p>1. Elaborarea și optimizarea procedurilor necesare fluxului de lucru. Optimizarea procedurilor de lucru pentru obținerea celulelor stem mezenchimale din măduva osoasă (MSC) și din țesutul adipos subcutan (ADSC) umane și murine; Elaborarea și optimizarea protocoalelor de lucru pentru obținere a VEC din sursele celulare propuse – MSC și ADSC.</p> <p>2. Caracterizarea morfologică și funcțională a MSC și ADSC și evaluarea capacității de producere a VEC (exozomi și microparticule). Obținerea și caracterizarea celulelor stem mezenchimale din măduva osoasă (MSC) sau din țesutul adipos subcutan (ADSC), provenite de la animalele (hamsterii) de tip control; Generarea <i>in vitro</i> de VEC (exozomi și microparticule) derivate din MSC sau ADSC;</p> <p>3. Caracterizarea VEC obținute în cultură și definirea sursei optime de exozomi și microparticule pentru aplicații în boala aterosclerotică. Stabilirea unui protocol optim de izolare a VEC; Analiza cantitativă a nivelelor de VEC generate de MSC sau ADSC în</p>	

	cultură; Caracterizarea nanostructurală și moleculară a VEC ca mesageri ai miRNAs specifice.
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)?	Având în vedere proprietatea naturală a VEC de transfer de informații genetice, în prezenta propunere, vom investiga pentru prima dată, posibilitatea de a utiliza VEC atât în scopuri de diagnostic precoce și prognostic, cât și în scopuri terapeutice în boala aterosclerotică. Scopul nostru este de a oferi dovada-concept ca VEC (exozomi și MPs), prin capacitatea lor de a transporta o subclasă de miARNs în circulație și de a le transfera către celulele țintă, ar putea reprezenta o nouă și valoroasă strategie terapeutică pentru medicina regenerativă în boala cardiovasculară, în particular pe hipertrofia cardiacă și ateroscleroză coronariană.
Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat?	Specia de animale utilizată este Hamsteri (sirieni) (<i>Mesocricetus auratus</i>) și vom utiliza 30 de hamsteri, împărțiți în 3 loturi de experiment (n=10): 1 lot de la care se va recolta măduvă osoasă hematogenă, 1 lot de la care va fi recoltat țesut adipos și 1 lot de la care se vor recolta măduvă osoasă și țesut adipos.
În contextul aspectelor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradul de severitate așteptat/probabil și care va fi finalul animalelor;	Nu există efecte adverse la animalele utilizate în experimentele derulate în cadrul acestui proiect. Animalele vor fi menținute în viață pe întreaga durată de derulare a proiectului și după aceea, până la decesul acestora din cauze naturale.
Aplicarea conceptului 3R	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.
Înlocuire Precizați de ce trebuie utilizate animale, și nu alte metode alternative	Liniile celulare existente de celule stem mezenchimale sunt linii imortalizate, stabilizate, la care eliberarea de exozomi este redusă. Celulele primare animale obținute din măduvă și țesut adipos prezintă o mai mare heterogenitate în ceea ce privește eliberarea VEC. Partenerului P3 îi revine sarcina de a identifica cea mai bună sursă tisulară de celule stem care eliberează cantități crescute de exozomi cu potențial terapeutic. Partenerii din acest proiect vor translate rezultatele obținute de noi pe subiecți umani, în vederea aplicării unei terapii în boala aterosclerotică.
Reducere Cum vă asigurați că numărul de animale utilizat este minim?	Animalele utilizate în cadrul proiectului sunt împărțite în 3 loturi, fiecare având 10 hamsteri, ceea ce este un minim în ceea ce privește obținerea de rezultate cuantificabile, reproductibile, utilizabile pentru translatarea clinică.
Îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire	Toate animalele de experiență vor dispune de adăpost, hrană, apă și îngrijiri în funcție de starea lor de sănătate și dispoziție. De

<p>și utilizare a animalelor în proceduri</p> <p>Explicați alegerea speciilor și de ce modelul de animale utilizate este cel mai potrivit ales, având în vedere obiectivele științifice.</p> <p>Explicați măsurile generale care trebuie luate pentru a minimiza răul produs animalelor.</p>	<p>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 sunt gazduite in custi conforme cu reglementarile legale de asigurare a spatiului. Accesul la hrana si apa este liber. Hrana la hamsteri este 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 sanatate a animalelor este monitorizata zilnic de personalul de specialitate si periodic prin analize de laborator.</p> <p>Specia de hamster a fost aleasă pentru aceste experimente datorită posibilității de a recolta țesuturile utile (măduvă osoasă hematogenă și țesut adipos subcutanat) fără sacrificarea animalelor de experiment.</p>
--	--

ST

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

*2) Se va menționa da sau nu.