

REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

Titlul proiectului	Dezvoltarea si validarea unui hidrogel cardiac pentru repararea miocardului infarctat
Durata proiectului (în luni)	24 luni
Cuvinte-cheie (maximum 5) ⁽¹⁾	<ul style="list-style-type: none"> • soarece C57Bl/6J • infarct miocardic experimental; • matrice extracelulara; • hidrogel functionalizat; • inginerie tisulara.
Scopul proiectului ⁽²⁾ (puteți alege mai multe răspunsuri)	<p>- Cercetare de bază⁽³⁾</p> <p>- Cercetare translațională și aplicată⁽³⁾</p>
Obiectivele și beneficiile preconizate ale proiectului	
Descrieți obiectivele proiectului (de exemplu, abordând anumite necunoscute științifice sau anumite necesități științifice sau clinice).	<p>Bolile cardiovasculare reprezinta principala cauză de deces la nivel global, infarctul miocardic fiind cea mai frecventă afecțiune cardiovasculara. Modificările structurale și deteriorarea inimii cauzate atat de moartea cardiomiocitelor din timpul evenimentului acut, cat și degradarea ulterioară a matricei extracelulare miocardice poate duce la insuficienta cardiac, iar regenerarea miocardului deteriorat continua sa fie o provocare. Prin urmare, îmbunătățirea retenției miocardice și a ratei de supraviețuire, prin implantarea hidrogeluri/scaffolduri functionalizate poate fi o terapie promitatoare in aceasta patologie.</p> <p>În acest context, ne propunem să dezvoltăm un hidrogel din țesut miocardic (My-H) din matricea extracelulara nativă cardiacă, funcționalizat cu un agent anti-inflamator, care va fi injectat in inima unor șoareci la care a fost indus infarct miocardic experimental, pentru a reduce răspunsul inflamator, a facilita infiltrarea fibroblastelor cardiace și a asigura o matrice extracelulara propice reparării miocardice post infarct.</p>
Care sunt potențialele beneficii care ar putea rezulta în urma acestui proiect? Explicați modul în care știința ar putea avansa, iar oamenii, animalele sau mediul pot beneficia, în ultimă instanță, de proiect. Acolo unde este cazul, diferențiați între beneficiile pe termen scurt (pe durata proiectului) și beneficiile pe termen lung (care se pot acumula după încheierea proiectului).	<p>Modificările structurale și deteriorarea inimii cauzate atat de moartea cardiomiocitelor din timpul unui eveniment ischemic acut, cat și degradarea ulterioară a matricei extracelulare miocardice poate duce la insuficienta cardiaca cronica. Prin urmare, scopul reparației post-infarct a miocardului este nu numai de a minimaliza deteriorarea acestuia pe termen lung prin reducerea inflamației, ci și de regenerare cu celule miocardice noi, funcționale și matrice extracelulară adecvată.</p> <p>Terapiile celulare prin stimularea formarii naturale de celule miocardice noi cat și repararea cardiacă sunt promitatoare în a ajuta recuperarea inimii. Totusi, transplantul cu celule stem este limitat deoarece rata de grefare este scăzuta, iar rata de supravietuire a celulelor injectate intramiocardic este slaba. Prin urmare, prezentul studiu isi propune sa investigheze efectele benefice ale unui hidrogel dezvoltat din matrice extracelulara nativa</p>

	cardiaca, obtinut prin decelularizarea tesutului cardiac porc in sau murin.
Prejudiciile preconizate	Nu este cazul.
În ce proceduri vor fi utilizate animalele în mod obișnuit (de exemplu, injecții, intervenții chirurgicale)? Indicați numărul și durata acestor proceduri.	<p>Experiment de microchirurgie cardiovasculara care utilizeza modelul murin pentru obtinerea unui infarct miocardic experimental. Aceasta procedura este foarte bine standardizata in Institutul nostru, durata de desfasurarii unei astfel de proceduri este de aproximativ 30 de minute. Pe scurt, pasii interventiei sunt urmatarii:</p> <ol style="list-style-type: none"> i) animalul este anesteziat complet pre-operator prin anestezie gazoasa (Izofluran 3%) sau anestezie injectabila (mix de 100 mg ketamina si 20 mg xilazina per kg corp) pe toata perioada interventiei, pentru a nu simti durere – <i>se executa o singura data, durata fiind de 30 secunde in cazul anestezicului injectabil sau pe toata durata interventiei in cazul anesteziei gazoase;</i> ii) interventie de intubare traheala asigurandu-se astfel o ventilatie mecanica pe toata durata interventiei chirurgicale - <i>se executa o singura data, durata fiind de 5 minute;</i> iii) deschiderea cavitatii toracice printr-o mica incizie in zona intercostala (intre a 4-a si a 5-a coasta) urmata de ligaturarea permanenta a arterei coronare stangi – <i>se executa o singura data, durata fiind de aproximativ 20 minute;</i> iv) administrarea hidrogelului se va realiza cu ajutorul unei seringi Hamilton in timpul operatiei, printr-o <i>injecție unica</i>. Astfel, dupa realizarea ligaturarii arterei coronariene stangi, inainte de a se inchide cutia toracica cu fire de sutura se injecteaza un volum de 10-20 ul hidrogel in regiunea infarctizata, la 1-2 mm sub nodul de ligature - <i>se executa o singura data, durata fiind de 3 minute;</i> v) Evaluarea functiei cardiace va fi analizata ecacardiografic cu ajutorul unui sistem VEVO 2100, VisualSonics la 7 zile dupa infarct si se va realiza sub anestezie. Functia cardiaca va fi masurata utilizand masuratoarea Simpson (ce utilizeaza 3 masuratori parasternal short axis si una parasternal long axis) -<i>se executa o singura data, durata fiind de 15 minute.</i> <p>Pentru experimentele desfasurate pe perioade mai lungi, precum inducerea infarctului miocardic, a fost elaborata o documentatie detaliata privind semnele de durere, iar analgezicul (0.1mg/kg corp Buprenorfina) va fi administrat de fiecare data cand comportamentul animalului sugereaza prezenta unei dureri.</p>
Care sunt impacturile/efectele adverse preconizate asupra animalelor, cum ar fi durerea, pierderea în greutate, inactivitatea/mobilitatea redusă, stresul, comportamentul anormal și durata acestor efecte?	<p>Efectul advers care poate aparea este durerea post-interventie chirurgicala si va fi ameliorat prin administrare de analgesic. Validarea în condiții de laborator a unui hidrogel cardiac prin injectarea și evaluarea eficacității terapeutice a acestuia într-un model de șoarece cu infarct miocardic indus experimental cuprinde proceduri experimentale cu grad de severitate moderată. După fiecare procedură experimentală, animalelor vor fi lăsate să se refacă, cu respectarea intervalului minim recomandat.</p> <p>Eutanasierea animalelor va surveni in final prin administrare de anestezic in supradoza,</p>

	dislocare cervicala sau CO2 si va fi efectuata de catre personalul calificat responsabil de realizarea experimentelor.					
Care sunt speciile și numărul de animale care urmează să fie utilizate? Care sunt nivelurile de severitate preconizate și numărul de animale din fiecare categorie de severitate (per specie)?	Specia ⁽⁴⁾	Numărul total estimat	Numărul estimat în funcție de severitate			
			Fără recuperare	Superficială	Moderată	Severă
	Mus musculus	150	25	-	125	-
Ce se va întâmpla cu animalele aflate în viață la finalul procedurii? ^{(5) (6)}	Numărul estimat care urmează a fi reutilizat		Numărul estimat care urmează a fi returnat într-un habitat/sistem de creștere		Numărul estimat care urmează a fi relocate	
	Nu este cazul		Nu este cazul		Nu este cazul	
Vă rugăm să furnizați motive pentru situația planificată a animalelor după procedură.	Animalele vor fi eutanasiate, aceasta procedura nu poate fi înlocuita, intrucat este necesara recoltarea organelor interne post-infarct (recoltarea chirurgicala a inimilor) pentru diferite analize histologice si de biologie moleculara.					
Punerea în aplicare a principiului înlocuirii, reducerii și îmbunătățirii						
1. Înlocuirea Indicați alternativele disponibile în acest domeniu care nu folosesc animale și motivul pentru care acestea nu pot fi utilizate în scopul proiectului.	Acest studiu se poate realiza numai pe organisme vii deoarece are ca scop repararea post infarct miocardic, patologie care poate fi reproducuta doar utilizand animalele de laborator prin ligaturarea arterei coronare stânga.					
2. Reducerea Explicați modul în care a fost stabilit numărul de animale pentru acest proiect. Descrieți măsurile luate pentru a reduce numărul de animale care urmează să fie utilizate și principiile folosite pentru elaborarea de studii. După caz, descrieți practicile care vor fi folosite în cadrul proiectului de reducere la minimum a numărului de animale utilizate în conformitate cu obiectivele științifice. Aceste practici pot include, de exemplu, studii-pilot, modelare pe calculator, utilizare în comun de țesuturi și reutilizare.	Am calculat numarul minim de animale pentru a putea efectua corect analiza statistica. De asemenea, am tinut cont in acest calcul si de cantitatea suficienta de tesut necesar pentru investigatiile de histologie si imuno-histologie. Mai mult, pentru a folosi un numar redus de animale vom efectua studii <i>in vitro</i> pentru a determina biocompatibilitatea hidrogelului cu celulele cardiace (linia murina de cardiomiocite – HL1).					
3. Îmbunătățirea Dați exemple de măsuri specifice (de exemplu, monitorizare sporită, asistență postoperatorie, gestionarea durerii, dresarea animalelor) care urmează să fie luate, în legătură cu procedurile,	Am ales specia de soarece C57Bl/6J deoarece: 1) costurile necesare creșterii și adăpostirii sunt scăzute, 2) este o specie studiată în detaliu din punct de vedere fiziologic si genetic, 3) prezinta o rata foarte buna de success in inducerea infarctului miocardic experimental prin ocluzia arterei coronare (64%).					

<p>pentru a reduce la minimum costurile bunăstării (prejudiciile aduse) animalelor. Descrieți mecanismele de preluare a noilor tehnici de îmbunătățire pe durata de viață a proiectului.</p>	<p>În scopul de a reduce durerea și stresul post-operator, toate animalele vor primi analgezice (0.1mg/kg corp Buprenorfina), înainte de operație și în prima zi post-operatorie. Pentru experimentele desfășurate pe perioade mai lungi, a fost elaborată o documentație detaliată privind semnele de durere, iar analgezicul va fi administrat de fiecare dată când comportamentul animalului sugerează prezența unei dureri.</p>			
<p>Explicați alegerea speciilor și stadiile de dezvoltare aferente.</p>	<p>În cadrul experimentelor se vor utiliza soareci de laborator (<i>Mus musculus</i>) din linia C57Bl/6J (wild-type), masculi. Am ales această specie deoarece: i) sunt animale mici, care se pot adăposti și crește ușor, sunt relativ ieftini și sunt bine adaptați la condițiile de laborator; ii) anatomia, fiziologia și genomul lor sunt foarte bine cunoscute, comparativ cu ale altor specii; iii) în urma studiilor anterioare de producere a infarctului miocardic prin ocluzia arterei coronare la diverse specii de animale mici de laborator, rata de succes cea mai mare a fost la șobolani de 83% și șoareci de 64%, comparativ cu hamsteri de 31% și porci de guinea doar de 25%. De asemenea, s-a arătat că spre deosebire de câini, șobolani și șoareci supraviețuiesc într-un procent mai mare în urma ocluziei arterei coronare stângi, deoarece la aceste specii nu apare fibrilația ventriculară.</p>			
<p>Proiectele selectate pentru evaluarea retroactivă⁽⁷⁾</p>	<p>Termen-limită</p> <p>Nu se aplica</p>	<p>Conține proceduri severe</p> <p>Nu se aplica</p>	<p>Utilizează primate nonumane</p> <p>Nu se aplica</p>	<p>Alt motiv</p> <p>Nu se aplica</p>
<p>(1) Inclusiv condițiile științifice care pot conține mai mult de 5 cuvinte, cu excepția speciilor și a scopurilor înscrise în altă parte în document. (2) De furnizat printr-un meniu derulant. (3) Lista scopurilor în conformitate cu categoriile și subcategoriile de raportare statistică anuală. (4) Specii în funcție de categoriile de raportare statistică anuală, cu o opțiune suplimentară de «mamifer nespecificat» pentru a păstra anonimatul în cazuri excepționale. (5) Speciile care urmează să fie preluate din răspunsul la întrebarea anterioară, corespunzătoare categoriei relevante (proporții). (6) Sunt posibile mai multe opțiuni pentru fiecare specie în parte. (7) Puteți alege mai multe răspunsuri."</p>				