

REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

Titlul proiectului	Modificarea proteinelor de legare a calciului din hipocamp în cadrul epileptogenezei		
Durata proiectului	12 luni		
Cuvinte-cheie (maximum 5) ¹	epilepsie, hipocamp, medicamente antiepileptice		
Scopul proiectului	Cercetare de bază ²	da	
	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		
	Mentținerea coloniilor cu animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri		
	Descrierea obiectivelor proiectului	<p>Vom efectua implantare intrahipocampală cronică de canulă și stimulare repetitivă chimică cu derivat de acid kainic la șobolani Wistar, un model experimental ce reproduce evoluția epilepsiei umane.</p> <p>Animalele vor fi urmărite video 24/24h pentru observarea crizelor spontane tonico-clonice.</p> <p>După sacrificarea animalelor focarul epileptic va fi evaluat cu marcaj imunohistochimic pentru proteinele de legare a calciului (CaBP), pentru a descrie cantitativ și calitativ modificările interneuronilor.</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>Datele referitoare la modificarea moleculară neuronală, mai specific a proteinelor clasice de legare a calciului în epilepsie sunt controversate, iar rolul celor nou descoperite nu a fost încă caracterizată.</p> <p>Mai multe studii recente au investigat efectul antiepilepticelor noi (AED) asupra reorganizării hipocampale însă rezultatele sunt contradictorii. În plus toate studiile au investigat efectul AED noi în timpul perioadei de inducție a epilepsiei și lipsesc datele despre urmărirea modificărilor pe parcursul epileptogenezei. În studiul de față am dori să analizăm schimbările CaBP clasice după administrarea de AED noi. Modificările la nivelul proteinelor CaBP noi nu au fost descrise anterior, din acest motiv am dori să analizăm aceste proteine în contextul reorganizării neuronale hipocampale în epilepsie cronică precum și efectul de AED noi, asupra acestor modificări.</p> <p>Colectarea datelor despre proteinele de legare a calciului ar putea fi relevantă din punct de vedere medical datorită rolului lor crucial în reglarea homeostaziei calciului, un proces perturbat în cazul mai multor boli neurologice și psihiatrice, cum ar fi epilepsia, boala Parkinson și boala Alzheimer. În plus, doar câteva studii au fost realizate cu privire la CaBPs noi, prin urmare cercetarea acestora reprezintă un teritoriu necunoscut și interesant.</p> <p>Investigarea efectului medicamentelor antiepileptice de generație nouă asupra nivelului de proteine de legare a calciului clasice și noi în contextul reorganizării, ar contribui la înțelegerea mai profundă a mecanismelor de acțiune a acestor medicamente.</p>		
Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat?	<p>Pentru îndeplinirea obiectivelor prezentului studiu sunt necesari în total 22 șobolani Wistar în vârstă de 6 săptămâni, de sex masculin, cu greutate corporală aproximativ egală. Necesarul de animale se va distribui astfel:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 8 animale - cu implant de canulă și inducție de epilepsie 		

	<ul style="list-style-type: none"> • 8 animale - cu implant de canula dar fără inducție de epilepsie • 6 animale - neimplantate, nestimulate (control absolut)
În contextul aspectelor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradul de severitate așteptat/probabil și care va fi finalul animalelor;	<p>- există un risc de mortalitate la administrare derivat de acid kainic între 10-20%, astfel numărul animalelor din acest lot este mai mare decât numărul animalelor din lotul control</p> <p>- există un risc de mortalitate din cauza implantării canalelor profunzi, lotul care va fi implantat cu canulă (operat) necesită suplimentarea în număr comparativ cu numărul animalelor control</p> <p>- procedurile implicate în proiect provoacă durere minimă, operațiile fiind efectuate în anestezie profundă cu ketamină-xilazină administrat intramuscular, cu testarea periodică a durerii, iar animalele sunt puse pe o platformă încălzită la 37°C pentru evitarea hipotermiei. Postoperator animalele sunt rehidratate/reechilibrate hidroelectrolitic, primesc regim alimentar bogat în vitamine, nutrienți și carbohidrați și la nevoie tratament antialgic și antiinflamator.</p> <p>- se respectă fiecare normă anti-și aseptică pentru a evita infectarea animalelor de laborator în timpul procedurii de implantare.</p> <p>- sacrificarea animalelor se face după anestezie profundă</p> <p>- administrarea substanțelor medicamentoase sunt considerate și clasificate drept „superficiale” însă având în vedere intervenția chirurgicală, inducerea epilepsiei precum și necesitatea adăpostirii individuale a animalelor procedurile pot fi clasificate ca fiind severe (Anexa VIII Directiva 2010/63/EU, Secțiunile I-III)</p>
Aplicarea conceptului 3R	Pentru obținerea unor rezultate cuantificabile cu efect translațional legat de epilepsia de lob temporal uman trebuie să utilizăm metoda experimentală descrisă.
Înlocuire Precizați de ce trebuie utilizate animale, și nu alte metode alternative.	În momentul de față nu există posibilitatea înlocuirii animalelor de experiență. Epilepsia de lob temporal este o boală foarte complexă, multe aspecte ale fiziopatologiei fiind necunoscute în momentul de față. Acest lucru se explică prin complexitatea sistemului nervos central, a cărui activitate fiziologică este departe de a fi cunoscut în detaliu, în ciuda cercetărilor numeroase în domeniu. Datorită acestei complexități, nici până în momentul de față nu există metode, modele, care să înlocuiască folosirea organismelor vii pentru cercetarea epilepsiei.
Reducere Cum vă asigurați că numărul de animale utilizat este minim?	Numărul animalelor este redus la minimum necesar pentru a obține rezultate care pot fi interpretate din punct de vedere statistic. -există un risc de mortalitate la administrare de derivat de acid kainic între 10-20%, astfel numărul animalelor din acest lot este mai mare decât numărul animalelor din lotul control -există un risc de mortalitate din cauza implantării canalelor profunzi, lotul care va fi implantat cu canulă (operat) necesită suplimentarea în număr comparativ cu numărul animalelor control -este foarte probabilă obținerea rezultatelor satisfăcătoare, modelul utilizat fiind una dintre cele mai des folosite și acceptate modele, iar laboratorul nostru are deja o experiență de 5 ani cu acesta. Se vor folosi animale tinere de același sex și vârstă astfel reducând șansa la variabilitate crescută. Laboratorul nostru are experiență în implantare canalelor intrahipocampale și este dotat cu toate instrumentele necesare acestei proceduri.
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.	Având în vedere intervenția chirurgicală (postoperator) precum și boala dezvoltată (epilepsia, cunoscut fiind din literatură asocierea de agresivitate marcată pe măsură ce boala progresează) este obligatoriu ca animalele să fie adăpostite individual, în cuști de mărime corespunzătoare normelor din Anexa III Directiva 2010/63/EU, secțiunea B, Tabelul 2.1. În această biobază există iluminare controlată care asigură ciclul de lumină-întuneric 12/12 ore. Condițiile ambientale sunt controlate, cu temperatură și umiditate constantă. Va fi asigurat acces liber (ad libitum) la apă și furaje. Animalele vor fi manipulate de personal calificat. Animalele sunt

supravegheate constant de medicul veterinar al instituției și vor primi tratamente specifice la nevoie.