

### REZUMAT NONTEHNIC AL PROIECTULUI

<b>Titlul proiectului</b>	Utilizarea nanosistemelor farmaceutice pentru modularea unor procese de la nivelul micromediului tumoral		
<b>Durata proiectului</b>	24 de luni		
<b>Cuvinte cheie (max. 5)</b>	Simvastatina (SIM); Doxorubicina (DOX); micromediul tumoral; lipozomi; curcumină (CUR)		
<b>Scopul proiectului</b>		DA	NU
	Cercetare de bază	DA	
	Bioechivalență, cercetare translațională și cercetare aplicată		NU
	Utilizare regulată și producții de rutină		NU
	Protecția mediului înconjurător în interesul sănătății și bunăstării oamenilor și animalelor		NU
	Conservarea speciilor		NU
	Învățământ superior și instruire		NU
	Anchete medico-legale		NU
	Menținerea coloniilor de animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri		NU
<b>Descrierea obiectivelor proiectului</b>	Obiectivul acestui studiu este de a dezvolta lipozomi co-încapsulați cu doxorubicină și simvastatină sau curcumină în vederea îmbunătățirii răspunsului la chimioterapie prin acțiunea directă a doxorubicinei asupra celulelor canceroase și prin modularea micromediului tumoral utilizând unul din cei doi compuși cu proprietăți antioxidante.		
<b>Care sunt potențialele beneficii aduse de către proiect</b>	<p>Avantajele co-încapsulării simvastatinei și doxorubicinei respectiv curcuminei și doxorubicinei în lipozomi, sunt în plan social, științific și economic.</p> <p>-Beneficiile pe plan social sunt reprezentate de faptul că administrarea unui singur agent terapeutic în doze crescute poate conduce la apariția a numeroase reacții adverse și a rezistenței celulei canceroase. Prin co-încapsulare, aceste inconveniente sunt mult diminuate iar acțiunea celor doi agenți terapeutici va fi una sinergică cu obținerea unor rezultate terapeutice semnificativ îmbunătățite. De asemenea, aceste beneficii conduc la creșterea speranței de viață și a complianței pacientului la tratament.</p> <p>-Beneficiile în plan științific sunt reprezentate de publicarea rezultatelor obținute în reviste prestigioase de profil cu deschiderea unor noi direcții de cercetare în acest domeniu și prin urmare, vizibilitatea științifică a cercetătorilor implicați va fi mai mare.</p> <p>-Beneficiile economice sunt reprezentate de costurile reduse de fabricație și de tratament. Prin co-încapsulare, costurile de</p>		

	<p>fabricație scad, deoarece fiecare substanță activă se va regăsi în concentrații terapeutice fixe ceea ce va permite o administrare mult mai ușoară a acestor produse pacienților de către personalul medical specializat. Prin urmare, vor scădea erorile de calcul a dozelor și costurile de spitalizare în cazul apariției unor reacții adverse secundare date de administrarea unei doze incorecte. De asemenea, costurile de tratament pentru un singur pacient vor scădea și ele semnificativ deoarece pacientul va achiziționa un singur produs ce va conține două substanțe active.</p>
<p>Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat</p>	<p>Șoareci BALB/c (110 animale)</p>
<p>În contextul procedurilor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradele de severitate metodele de eutanasiu.</p>	<p>În vederea efectuării studiilor pe culturi celulare, celulele canceroase vor fi co-cultivate cu macrofage obținute de la șoareci BALB/c. Animalele destinate efectuării studiilor <i>in vitro</i>, vor fi sacrificate prin asfixiere în atmosferă de CO<sub>2</sub>. De la acestea se vor colecta oasele femurale, impuritățile de pe oasele femurale îndepărtându-se cu alcool de 70%. Măduva hematogenă va fi extrasă cu ajutorul unei seringi (20 ml) cu ac (20-G), iar suspensia obținută va fi omogenizată și centrifugată în vederea obținerii celulelor de interes. Macrofagele vor fi resuspendate în 10 ml mediu de cultura DMEM conținând 10 ng/ml M-CSF și vor fi incubate la 37°C și atmosferă de 5% CO<sub>2</sub> în vederea aderării acestora la substrat. În ziua a 7-a de la cultivare, se vor obține macrofage aderente care vor putea fi ulterior co-cultivate cu celulele tumorale urmând ca ulterior să se efectueze studiile în vederea determinării indicelui IC<sub>50</sub> și a indicelui de combinare dintre substanțe.</p> <p>În cadrul studiului <i>in vivo</i> se va utiliza un model experimental tumoral de cancer de colon cu celule C26. Șoarecilor singenici li se va injecta subcutanat un număr de <math>1 \times 10^6</math> celule tumorale în flancul drept. Astfel se va putea obține un model de cancer de colon subcutanat, numărul de celule fiind ales astfel încât să se evite apariția metastazelor. Studiile vor începe când tumorile devin palpabile.</p> <p>Animalele vor fi monitorizate pe toată perioada studiului în ceea ce privește masa corporală și volumul tumoral. Sistemul terapeutic se va administra în vena caudală iar volumul administrat va fi adaptat în funcție de greutatea corporală a animalului, respectiv maxim 200 <math>\mu</math>l pentru un șoarece de 20 g, pentru a nu perturba echilibrul hidrodinamic al sângelui animalelor de experiență. Doza de agenți terapeutici administrată la animalele de experiență nu va produce efecte secundare severe. Dimensiunea tumorilor se va măsura din două în două zile iar în cazul în care tumorile vor atinge un volum mai mare de 2000 mm<sup>3</sup>, animalele vor fi eutanasiate în atmosferă de CO<sub>2</sub> pentru a evita apariția metastazelor.</p>

	Gradul de severitate al acestui studiu este unul sever iar animalele rămase la finalul studiului vor fi eutanasiate prin asfixiere în atmosferă de CO <sub>2</sub> .
Aplicarea conceptului celor 3R	
Înlocuire – precizați de ce nu pot fi folosite metode alternative pentru obținerea unor rezultate științifice satisfăcătoare	Studiul va fi efectuat în prealabil pe co-culturi celulare, ceea ce va permite reducerea semnificativă a numărului de animale luate în studiu. Cu toate acestea, prin co-încapsularea celor doi compuși ne dorim să acționăm prin două mecanisme, și anume prin țintirea directă a celulelor canceroase și prin modularea micromediului tumoral, acest rezultat putând fi pus în evidență inițial prin studiile <i>in vitro</i> și ulterior <i>in vivo</i> . Deoarece sistemul terapeutic se va administra sistemic pe cale injectabilă, prin studiile <i>in vivo</i> se poate pune în evidență acțiunea țintită a sistemului terapeutic dezvoltat prin reducerea mărimii tumorii, ceea ce face ca importanța acestor studii în studiile oncologice să fie semnificativă.
Reducere – Cum vă asigurați ca numărul de animale implicate va fi minim.	Pe baza studiilor efectuate anterior și a datelor din literatura, în vederea obținerii unor rezultate semnificative, numărul minim de animale admis pentru studiile oncologice este de 10 exemplare/lot. Astfel, se vor utiliza șoareci masculi de tip BAL.B/c, fiind animale consacrate pentru astfel de studii.
Îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire și utilizare a animalelor în proceduri. Explicați alegerea speciei și de ce modelul animal ales este cel mai potrivit. Explicați măsurile generale luate pentru a reduce răul produs animalelor.	Procedurile aplicate animalelor corespund ultimelor recomandări ale comisiilor de etică, și cauzează un stres minim animalelor. Efectivul total de șoareci utilizați va fi menținut cât mai mic posibil. Conform unui protocol prestabilit, animalele vor fi controlate în mod regulat. Din experiența anterioară a coordonatorilor, s-a constatat că animalele nu vor prezenta tulburări de comportament ulterioare manoperelor prevăzute. Pe tot parcursul experimentelor, animalele vor primi hrana standard și apa <i>ad libitum</i> .