

## REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

Titlul proiectului	Terapie suport pentru diabet prin imbunatatirea rezistentei la stres si a capacitatii regenerative a celulelor $\beta$
Durata proiectului (în luni)	60 de luni
Cuvinte-cheie (maximum 5) <sup>(1)</sup>	Diabet; celule $\beta$ ; rezistenta la stres; RPN adaptativ; controlul glucozei
Scopul proiectului <sup>(2)</sup> (puteți alege mai multe răspunsuri)	- Cercetare de bază <sup>(3)</sup> - DA  - Cercetare translațională și aplicată <sup>(3)</sup> - DA
Obiectivele și beneficiile preconizate ale proiectului	
Descrieți obiectivele proiectului (de exemplu, abordând anumite necunoscute științifice sau anumite necesități științifice sau clinice).	Obiectivul proiectului este de a proiecta, rafina și consolida o abordare terapeutică relevantă clinic pentru regenerarea funcției celulare $\beta$ a pancreasului diabetic prin modularea unui proces celular fundamental: răspunsul la proteine nepliate (RPN). In cadrul acestui proiect de cercetare vom urmări trei sub-obiective majore: 1. identificarea și caracterizarea tulburărilor de cale secretorie timpurie care apar în timpul progresiei diabetului în diferite modele preclinice de animal în combinație cu insulte variate; 2. definirea subclaselor de RPN care apar în celulele $\beta$ în timpul progresiei diabetului pentru diferite modele de diabet; 3. modularea RPN în diferite modele de diabet pentru a restabili homeostazia insulinei.
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).	Rezultatele obținute în cadrul acestui proiect se vor dovedi instrumentale în proiectarea, perfecționarea și consolidarea unor intervenții terapeutice mai bune care vizează modularea acestui proces fundamental în diabet și vor fi de ajutor pentru alte tulburări cronice cu o componentă de stres de reticul endoplasmatic.
Prejudiciile preconizate	Pentru realizarea modelului NSG RIP-DTR, soarecilor li se va administra o doză strictă, optimizată, de toxina difterică (DT), care odată injectată în animal, este complet metabolizată, minimizând astfel contaminarea mediului inconjurator.
În ce proceduri vor fi utilizate animalele în mod obișnuit (de exemplu, injecții, intervenții chirurgicale)? Indicați numărul și durata acestor proceduri.	-Testarea glicemiei – se va face de 2 ori pe săptămână, începând de la vârsta de 11 săptămâni pentru soarecii NOD, până la vârsta de maxim 28 de săptămâni; respectiv începând de la 7 zile după administrarea DT, de câte 2 ori pe săptămână la soarecii NSG RIP-DTR, până la vârsta de maxim 28 de săptămâni - Injectarea de tratamente intravenoase sau intraperitoneale – se va face 1 dată pe săptămână, timp de maxim 3 săptămâni la soarecii diabetici, și de maxim 12 săptămâni la soarecii nediabetici/control.

	- Transplantul de insule pancreatice – se va face 1 data, soarecii fiind monitorizati ulterior pana la varsta de maxim 28 de saptamani.					
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?	Efectele adverse preconizate sunt poliurie, scadere in greutate precum si efecte asociate hiperglicemiei. In scopul reducerii durerii si a stresului post-operator, animalele vor primi analgezice, pre-operator si in primele 2 zile post-operatorii, la fiecare 8 ore. Pentru experimentele desfasurate pe perioade mai lungi, se va realiza o documentatie detaliata privind semnele de durere, si analgezicul va fi administrat de fiecare data cand comportamentul animalului sugereaza prezenta durerii. Animalele diabetice nu vor fi mentinute mai mult de 3 saptamani de la instalarea diabetului.					
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 <sup>(4)</sup>	Numărul total estimat	Numărul estimat în funcție de severitate			
			Fără recuperare	Superficială	Moderată	Severă
	<i>Mus musculus</i> NOD	1836	20	100	1716	
	<i>Mus musculus</i> NOR	546		546		
	<i>Mus musculus</i> NSG RIP-DTR	884	130	312	442	
	<i>Mus musculus</i> C57Bl/6J	36		36		
	<i>Mus musculus</i> BALB/c	10		10		
	<i>Mus musculus</i> NSG	60	60			
	<i>Mus musculus</i> NOD-SCID	60	60			
	<b>Total <i>Mus musculus</i></b>	<b>3432</b>	<b>270</b>	<b>1004</b>	<b>2158</b>	
Ce se va întâmpla cu animalele aflate în viață la finalul procedurii? <sup>(5) (6)</sup>	Numărul estimat care urmează a fi reutilizat: Nu este cazul		Numărul estimat care urmează a fi returnat într-un habitat/sistem de creștere: Nu este cazul		Numărul estimat care urmează a fi relocate: Nu este cazul	
Vă rugăm să furnizați motive pentru situația planificată a animalelor după procedură.	Dupa procedura, animalele vor fi eutanasiate deoarece este necesara prelevarea si analiza diferitelor tesuturi (pancreas, splina, noduli limfatici, ficat).					
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.	Deoarece in cadrul acestui proiect se incearca stabilirea unei terapii noi pentru a lupta mai eficient impotriva diabetului de tip 1, o maladie autoimuna cu o crestere ingrijoratoare a incidentei in special la copii mici, nu pot fi evitate studiile pre-clinice pe animale de laborator. Astfel, proiectul elaboreaza o potentiala implementare a unui concept inovator pentru tratamentul diabetului de tip 1, care afecteaza o parte semnificativa a populatiei. In cazul in care rezultatele experimentale vor oferi dovada conceptuala a principiului acestei terapii, studii clinice viitoare vor fi initiate pentru a devansa introducerea pe piata. Prin urmare, conditiile patologice complexe studiate in acest proiect					

	nu pot fi simulate in alt sistem, modelul animal fiind de neînlocuit. Totuși, optimizarea protocoalelor de lucru inclusiv dozajul inductorilor farmacologici se va face initial pe culturi celulare.			
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.	Numarul de animale propus este cel minim pentru a obtine o cantitate suficienta de material biologic si o semnificatie statistica a rezultatelor. Ori de câte ori este adecvat, se va folosi un singur grup de control pentru diferite condiții experimentale. De asemenea, ori de cate ori este posibil, se vor efectua analize multiple pe aceleasi organe prelevate (RNA, microscopie, etc).			
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, 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.	Procedurile experimentale vor fi efectuate numai de personal de cercetare cu experiență. Se va acorda o mare atenție creșterii bunăstării animalelor în timpul și după procedurile experimentale. Se va acorda o atenție specială proiectării experimentale a tuturor etapelor procedurale pentru a reduce la minimum suferința și disconfortul animalelor. Când este necesar, animalele vor primi anestezie și analgezie adecvate în timpul procedurilor, precum și după acestea. În timpul și după proceduri, animalele vor fi monitorizate pentru a preveni orice disconfort sau durere. Șoarecii diabetici vor fi monitorizați (glicemie și greutate), iar starea lor de sănătate va fi notată pentru a determina când este necesară eutanasierea. În cazul șoarecilor diabetici, schimbarea cuștilor se va face de două ori pe săptămână sau mai des, deoarece animalele dezvoltă poliurie indusă de diabet. După instalarea diabetului, șoarecii nu vor fi mentinuti in experiment mai mult decat necesar pentru evitarea supunerii acestora la conditii de stres si suferinta. Astfel, se recomanda eutanasierea acestora la 3 saptamani de la instalarea diabetului in situatia in care glicemia acestora se mentine peste limita de 250 mg/dl si incep sa scada semnificativ in greutate.			
Explicați alegerea speciilor și stadiile de dezvoltare aferente.	Experimentele vor fi realizate pe șoareci de laborator ( <i>Mus musculus</i> ) deoarece: (i) sunt animale mici, ce se pot adapta și crește ușor, sunt relativ ieftini și se adaptează bine la noi condiții de mediu; (ii) anatomia, fiziologia și genomul lor sunt foarte bine înțelese de cercetători, facilitându-se astfel dezvoltarea mai rapidă a științei; (iii) permite studiul diabetului deoarece dezvoltă spontan diabet de tip 1 (șoarecii NOD), respectiv în urma injectiei cu DT (șoarecii NSG RIP-DTR).			
Proiectele selectate pentru evaluarea retroactivă <sup>(7)</sup>	Termen-limită	Conține proceduri severe	Utilizează primat nonumane	Alt motiv
	Nu se aplica	Nu se aplica	Nu se aplica	Nu se aplica
<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.</p> <p>(2) De furnizat printr-un meniu derulant.</p>				

- (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."