

REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

Titlul proiectului	Evaluarea impactului medicației antifibrotice în primul model experimental de fibrilație atrială relevant clinic. Crearea unei schimbări de paradigmă în fibrilația atrială experimentală.
Durata proiectului (în luni)	24 de luni
Cuvinte-cheie (maximum 5) ⁽¹⁾	Fibrilație atrială, fibroză, antifibrotice
Scopul proiectului ⁽²⁾ (puteți alege mai multe răspunsuri)	Cercetare de bază; Cercetare translațională și aplicată
Obiectivele și beneficiile preconizate ale proiectului	
Descrieți obiectivele proiectului (de exemplu, abordând anumite necunoscute științifice sau anumite necesități științifice sau clinice).	Prin acest proiect, ne propunem să evaluăm potențialul antiaritmice al unei noi abordări antifibrotice într-un model experimental de FA relevant din punct de vedere clinic – la șobolani cu FA apărută spontan, pe un atriu remodelat structural, pe un fond de circumstanțe asociate în mod caracteristic cu FA (înaintare în vârstă și hipertensiune arterială) și în prezența tratamentului antihipertensiv standard. Acest proiect are 2 obiective centrale, ambele dedicate unor probleme majore ale cercetării FA: (i) evaluarea potențialului antiaritmice al unei noi strategii antifibrotice pentru prima dată într-un context relevant din punct de vedere clinic; (ii) crearea unei schimbări de paradigmă în experimentarea animală în domeniul FA, bazată pe conceptul că toate noile strategii antiaritmice ar trebui testate exclusiv în modele animale de FA ce reproduc corect FA umană. Obiectivele specifice ale proiectului sunt: (i) evaluarea impactului administrării pe termen lung a unui antifibrotic puternic asupra remodelării atriale structurale în prezența și în absența terapiei antihipertensive standard; (ii) evaluarea impactului administrării pe termen lung a unui antifibrotic puternic asupra incidenței FA nou instalate și a inductibilității FA în prezența și în absența terapiei antihipertensive standard; (iii) evaluarea efectelor unui antifibrotic puternic asupra încărcăturii cu FA la șobolani cu FA deja instalată în prezența și în absența terapiei antihipertensive standard; (iv) evaluarea efectelor unor strategii antifibrotice asupra remodelării atriale structurale, asupra incidenței FA nou instalate și asupra recurenței FA.
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).	Este de așteptat ca acest proiect să furnizeze multiple beneficii pe termen lung. Capacitatea limitată a modelelor experimentale de FA de a mima corect FA umană este unul dintre cele mai critice aspecte în cercetarea FA. Acest studiu își propune să evalueze pentru prima dată un potențial nou agent antiaritmice într-un model de FA relevant clinic. Este de așteptat ca acest proiect să creeze o schimbare de paradigmă în experimentarea animală în domeniul FA și să stimuleze și alte studii menite să elucideze fiziopatologia FA și să identifice și să testeze noi abordări terapeutice într-unul dintre cele mai frecvente situații întâlnite în practica clinică. Rezultatele obținute în aceste condiții au cele mai mari șanse de a fi confirmate ulterior în studii clinice, permițându-ne astfel să evităm studii clinice costisitoare, cu agenți care au șanse reduse de a aduce beneficii clinice sau care ar putea fi nocivi. Astfel, este de așteptat ca acest proiect să influențeze semnificativ domeniul său de cercetare prin propunerea unei noi abordări în experimentarea FA și să aibă impact științific și socio-economic major. Medicamentele antiaritmice actuale au limitări majore în ceea ce privește eficiența și siguranța. Au fost testate o serie de strategii menite să prevină, să blocheze sau să reverseze fibroza atrială. Marea majoritate au furnizat însă rezultate destul de dezamăgitoare. Un agent cu efect antifibrotic intens, utilizat în prezent în tratamentul pacienților cu fibroză pulmonară severă, ar putea oferi o soluție. Dacă se dovedește eficientă, această abordare antifibrotică ar putea reduce încărcătura cu FA, ar putea preveni sau cel puțin amâna necesitatea de a administra agenți antiaritmici convenționali și ar avea astfel un impact socio-economic major, reducând spitalizările și absenteismul de la muncă legate de FA sau de complicațiile ei. Din punct de vedere științific, e de așteptat ca acest proiect să aducă de asemenea informații importante legate de dinamica fibrozei atriale la hipertensivi și de reversibilitatea ei prin administrarea de agenți antifibrotici.
Prejudiciile preconizate	Procedurile realizate pe parcursul studiului pot cauza stres, durere, disconfort. La sfârșitul studiului, toate animalele vor fi eutanasiate.
În ce proceduri vor fi utilizate animalele în mod obișnuit (de exemplu, injecții, intervenții chirurgicale) ? Indicați numărul	Toate animalele vor fi supuse următoarelor intervenții: măsurarea săptămânală a masei corporale pe toată durata studiului (durata – cca 5 min/animal; 8 măsurări la 4 dintre grupurile de studiu, 36 de măsurări la celelalte 4 grupuri); măsurarea săptămânală a presiunii arteriale sistolice prin metode neinvazive, pe toată durata

și durata acestor proceduri.	studiului (durata – cca 10 min/animal; 8 măsurări la 4 dintre grupurile de studiu, 36 de măsurări la celelalte 4 grupuri); implantarea unor dispozitive ECG de radiotelemetrie în poziție subcutanată (durata procedurii – cca 45 de min/animal; aplicată o singură dată pentru fiecare animal). Animalele din 4 dintre cele 8 grupuri de studiu vor fi supuse de asemenea unui protocol de stimulare electrică transesofagiană pentru inducerea FA (durata procedurii – cca 90 min/animal; aplicat o singură dată pentru fiecare animal).					
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?	Pe baza studiilor realizate anterior, este de așteptat ca mortalitatea înregistrată în cadrul proiectului să fie una extrem de redusă. Este de așteptat ca măsurarea săptămânală a masei corporale și a presiunii arteriale sistolice prin metode neinvazive să nu producă nici un efect advers asupra animalelor. Implantarea dispozitivelor ECG de radiotelemetrie în poziție subcutanată se va realiza sub anestezie inhalatorie cu izofluran. Procedura este una de severitate moderată, animalele putând prezenta durere moderată la locul intervenției, pe termen scurt. Animalele vor primi o doză de ketoprofen (2 mg/kg, s.c.) pentru combaterea durerii, care va fi repetată la nevoie, dacă se observă semne de suferință fizică. Protocolul de stimulare electrică transesofagiană pentru inducerea FA va fi realizat sub anestezie cu ketamină/medetomidină (4:2,5; i.p.). Acest protocol este larg utilizat în studii similare și nu afectează semnificativ confortul ori starea generală a animalelor.					
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
	Șobolan (<i>Rattus norvegicus</i>)	64	-	-	64	-
Ce se va întâmpla cu animalele aflate în viață la finalul procedurii? ^{(5) (6)}	Numărul estimat care urmează a fi reutilizat 0		Numărul estimat care urmează a fi returnat într-un habitat/sistem de creștere 0		Numărul estimat care urmează a fi relocat 0	
Vă rugăm să furnizați motive pentru situația planificată a animalelor după procedură.	Unul dintre obiectivele majore ale proiectului este evaluarea efectului unor agenți terapeutici asupra fibrozei atriale și a căilor moleculare și proteinelor implicate în acest proces. Evaluarea acestor aspecte impune evaluarea directă a țesutului cardiac. La sfârșitul studiului, toate animalele vor trebui să fie așadar eutanasiate. Eutanasierea animalelor va fi realizată prin injectarea intraperitoneală a unei supradoze de pentobarbital sodic (>100 mg/kg). După eutanasiere, cordul animalelor va fi explantat, se vor preleva eșantioane de atriu și se vor evalua elementele specificate mai sus.					
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.	Evaluarea impactului unui agent terapeutic asupra aritmogenicității cardiace impune evaluarea <i>in vivo</i> a ritmului cardiac al subiecților analizați. Având în vedere complexitatea activității electrice cardiace și interacțiunile multiple care există între diversele tipuri celulare cardiace și mai ales între celulele cardiace și sistemul nervos autonom și cel neuroendocrin, soluții alternative, precum studiile <i>in vitro</i> sau cele <i>in silico</i> , nu permit evaluarea întregului spectru de efecte al acestor agenți și au o capacitate extrem de limitată de extrapolare a rezultatelor la specia umană.					
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.	Studiul de față a fost elaborat astfel încât să asigure utilizarea numărului minim necesar de animale. Fiecare grup de studiu va include 8 animale. Mărimea eșantionului a fost determinată pe baza studiilor anterioare, care au evaluat variabilitatea interindividuală a acestor animale în ceea ce privește numărul de episoade aritmice spontane, numărul de 8 animale fiind considerat numărul minim necesar pentru a asigura o analiză statistică corespunzătoare și care permite atingerea obiectivelor proiectului. Atingerea obiectivelor proiectului impune de asemenea realizarea a multiple analize de laborator (histologie, TaqMan, WB) la nivelul țesutului atrial, care este de dimensiuni extrem de reduse la șobolan. Pentru a reduce la minim numărul de animale utilizate, tehnicile de laborator ce urmează a fi utilizate au fost optimizate în studii anterioare astfel încât analizele să poată fi realizate pe cantități extrem de mici de țesut. Fiecare eșantion tisular, provenit de la fiecare animal, va fi utilizat astfel pentru a realiza multiple analize, limitând de manieră importantă numărul de animale utilizate. De asemenea, după analiză, eșantioanele de țesut vor fi conservate pentru a fi analizate și în alte studii ulterioare.					
3. Îmbunătățirea Dați exemple de măsuri specifice (de exemplu, monitorizare sporită, asistență postoperatorie,	Animalele vor fi transferate în laborator cu o săptămână anterior începerii protocoalelor experimentale în vederea acclimatizării. Toate animalele vor fi adăpostite într-o încăpere izolată fonic, care asigură temperatură și ventilație controlate, cu un ciclu somn-veghe de 12h (12 ore lumină, 12 ore întuneric).					

<p>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.</p>	<p>Animalele vor beneficia de hrană standard și apă <i>ad libitum</i>. Toate animalele vor fi supravegheate și monitorizate zilnic din punct de vedere al statusului biologic general și al capacității de autoîngrijire. Se va monitoriza săptămânal masa corporală. În cazul unei scăderi ponderale semnificative sau a alterării semnificative a statusului biologic, animalele vor fi eutanasiate prin injectarea intraperitoneală a unei supradoze de pentobarbital sodic (>100 mg/kg). În cazul procedurilor care au potențialul de a cauza durere (implantul dispozitivelor ECG de radiotelemetrie) se va administra o doză profilactică de analgezic la sfârșitul procedurii (ketoprofen, 2 mg/kg, s.c.), care va fi repetată la nevoie. După implantul dispozitivelor de radiotelemetrie ECG, plăgile chirurgicale vor fi evaluate zilnic și orice complicație locală va fi tratată prompt.</p>
<p>Explicați alegerea speciilor și stadiile de dezvoltare aferente.</p>	<p>Șobolanii sunt adaptați evaluării modificărilor sistemului cardiovascular în general și a aritmiilor cardiace în special, prin tehnici validate în numeroase studii anterioare. Rezultatele obținute în cadrul studiului experimental vor fi validate la specia umană în studii clinice ulterioare.</p>
<p>Proiectele selectate pentru evaluarea retroactivă</p>	<p>Nu este cazul</p>