

REZUMATUL CU CARACTER NONTEHNIC AL PROIECTULUI

Titlul proiectului	Dezvoltarea de nanofitozomi concepuți pentru administrarea neinvazivă și cu biodisponibilitate crescută a unor compuși biologic activi cu proprietăți antioxidante și imunostimulatoare
Durata proiectului (în luni)	36 de luni
Cuvinte-cheie (maximum 5) <sup>(1)</sup>	Stres oxidativ, stres inflamator, principii active, soarecii C57B/6J, soarecii apoEdeficienti,
Scopul proiectului <sup>(2)</sup> (puteți alege mai multe răspunsuri)	- Cercetare de bază <sup>(3)</sup>  - Cercetare translațională și aplicată <sup>(3)</sup>
Obiectivele și beneficiile preconizate ale proiectului	
Descrieți obiectivele proiectului (de exemplu, abordând anumite necunoscute științifice sau anumite necesități științifice sau clinice).	Numeroase boli apar și se agravează ca urmare a amplificării stresului oxidativ și a celui inflamator în organism. Tratamentele cu antioxidanți naturali, precum polifenolii sau flavonoidele, ar putea avea efecte benefice dacă sunt protejați împotriva degradării rapide in vivo. Prezentul proiect are ca scop testarea biodisponibilității (Obiectivul I) și a proprietăților antioxidante și anti-inflamatorii (Obiectivul II) ale unui produs nou (supliment alimentar) care combină principiile active din extractele hidroalcoolice de rizomi de ghimbir (GINex) și macese (ROSAex) încapsulate în nanoparticule fosfolipidice numite fitozomi.
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 preconizate a fi obținute vor avea beneficii pe termen lung, deoarece vor arăta că formularea principiilor active naturale în fitozomi asigură o mai mare stabilitate a lor, permite o administrare neinvazivă, pe cale orală, minimizează pierderile de-a lungul tractului digestiv și acest fapt determină creșterea biodisponibilității acestor compuși. În consecință, va fi necesară administrarea unor doze mai mici din acești antioxidanți ceea ce va diminua considerabil efectele lor secundare.
Prejudiciile preconizate	Nu sunt preconizate prejudicii
În ce proceduri vor fi utilizate animalele în mod obișnuit (de exemplu, injecții, intervenții chirurgicale)? Indicați numărul și durata acestor proceduri.	Administrare de principii active prin gavaj zilnic sub forma unei doze timp de 1-12 zile; administrare de dietă grasă ad libitum timp de 8-12 săptămâni; injecție de LPS intraperitoneal în doză unică; recoltare de sânge din vena caudală la finalul perioadei de administrare a preparatelor; eutanasiere cu supradoză de anestezic (ketamine) și prelevare de tesuturi.
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 suferite de animale vor fi absente sau minime, aceste principii active fiind bine tolerate. Administrarea dietei grase se va face pe o durată de timp care nu induce efecte adverse semnificative. Animalele cărora li se va administra LPS injectabil în doză minimă vor fi atent monitorizate pentru a identifica eventualele efecte adverse neprevăzute și care să

determine eutanasierea lor in cel mai scurt timp							
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	
		Mus musculus C57B/6J	195	-	170	25	-
		Mus musculus apoE deficiente	25	-	25	-	-
	Total	220	-	195	25	-	
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.	La finalul procedurilor, animalele vor fi eutanasiate cu supradoza de anestezie (ketamina), deoarece obiectivele proiectului prevad analiza din punct de vedere biochimic si imunohistochimic a unor organe (ficat, cord) prelevate de la acestea.						
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.	Pentru stabilirea concentrațiilor optime/netoxice de fitozomi cu GINex si ROSAex ce urmeaza a fi administrate in vivo se vor utiliza modele experimentale in vitro si anume culture celulare umane (enterocite si hepatocite). Deoarece in acest studiu ne propunem sa efectuam teste de farmacocinetica pentru masurarea gradului de absorbtie a principiilor active de GINex si ROSAex incapsulate in fitozomii, precum si stabilitatea, timpul de viata al acestor compusi in circulatie si in diferite organe si tesuturi, acest tip de studiu se poate realiza numai pe animale.						
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.	Vom utiliza cel mai mic număr de animale necesar pentru a obtine o analiza statistica semnificativa a rezultatelor. Numărul de animale stabilit pe fiecare subgrup experimental este cuprins între 5-8, acesta fiind necesarul pentru a obtine o analiza statistica relevanta si o cantitate suficientă de probă biologică pentru analizele biochimice. Vom folosi un singur grup de animale control C57Bl/6J pentru cele doua obiective ale proiectului.						
3. Îmbunătățirea  Dați exemple de măsuri specifice (de exemplu, monitorizare	Procedurile experimentale prevazute vor fi efectuate numai de personalul de cercetare cu experiență in acest sens Se va acorda o mare atenție cresterii bunăstării animalelor în timpul și după procedurile experimentale, scopul fiind de a reduce la minimum suferința și						

<p>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.</p>	<p>disconfortul animalelor. Animalele vor fi atent monitorizate pe durata efectuării gavajului (de 2-3 ori zilnic). Când este necesar, animalele vor primi anestezie și analgezie adecvate în timpul procedurilor (ex. recoltare de sange) și vor fi monitorizate pentru a preveni orice disconfort sau durere. Șoarecii C57Bl/6J cărora li se va administra LPS prin injecție intraperitoneală vor fi monitorizați în mod particular, iar starea lor de sănătate va fi urmărită pentru a determina când este necesară eutanasierea.</p>			
<p>Explicați alegerea speciilor și stadiile de dezvoltare aferente.</p>	<p>Pentru experimentele de farmacocinetica vom utiliza șoarecii din linia C57Bl/6J, iar pentru testarea proprietăților antioxidante și anti-inflamatorii ale noului produs vom utiliza șoarecii din linia C57Bl/6J injectați intra-peritoneal cu LPS și șoareci deficienți în apolipoproteina E (apoE<sup>-/-</sup>) cu background C57B/6J hrăniți cu dieta grasă. Am ales aceste linii deoarece: (i) sunt animale mici care se pot adapta și crește ușor și relativ ieftin, sunt bine adaptați la condițiile de laborator; (ii) fiziologia și genomul lor sunt foarte bine cunoscute, comparativ cu alte specii; (iii) șoarecii apoE deficienți sunt un model genetic consacrat în literatura pentru studiul factorilor de risc de tipul stresul oxidativ și cel inflamator; (iv) șoarecii C57Bl/6J injectați intra-peritoneal cu LPS reprezintă un model consacrat de inflamație sistemică; (v) șoarecii C57Bl/6J constituie controlul «wild-type» pentru șoarecii apoE deficienți.</p>			
<p>Proiectele selectate pentru evaluarea retroactivă<sup>(7)</sup></p>	<p>Termen-limită</p>	<p>Conține proceduri severe</p>	<p>Utilizează primate nonumane</p>	<p>Alt motiv</p>
	<p>Nu se aplica</p>	<p>Nu se aplica</p>	<p>Nu se aplica</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>				