

Allegato "B"

Prot. n. 53630
Data: 11/3/2014
Anno 2014 Tit. III Cl. 13 Fasc. 13

Al Resp. del Progetto di Ricerca
Dr.ssa **Sara De Martin**
Dip. di Scienze del Farmaco
Largo Meneghetti, 2
35121 - Padova

Numero del Progetto: **7/2014**

Progetto esaminato in data: **29 Gennaio 2014**

TITOLO DELLA RICERCA/ RESEARCH TITLE:	"Effetto della cirrosi colestatica sui recettori nucleari che controllano l'espressione dei citocromi della sottofamiglia 3A; studi nel ratto".
RESPONSABILE del PROGETTO di RICERCA/ CHIEF OF RESEARCH PROJECT:	Dr.ssa Sara De Martin
STABILIMENTO UTILIZZATORE/ ANIMAL FACILITY	<ul style="list-style-type: none">• Stabulario del Centro Interdipartimentale di Servizi di Chirurgia Sperimentale, Via Giustiniani 8 – 35128 (PD)• Stabulario del dip. di Scienze del Farmaco, Edificio di Farmacologia, Largo Meneghetti 2, 35121 (PD)
VETERINARIO RESPONSABILE/ VETERINARY CENTRAL SERVICES FOR THE PROTECTION OF ANIMALS USED FOR EXPERIMENTAL AND OTHER SCIENTIFIC PURPOSES	<i>Prof. Bernardini</i> , coadiuvato dai medici veterinari del Servizio Veterinario Centralizzato di Ateneo
TIPO DI ANIMALI/TYPE OF ANIMAL: RATTI (n.40 ratti Wistar e n. 40 ratti Sprague-Dawley)	NUMERO DI ANIMALI/ NUMBERS OF ANIMALS: 80

COMUNICAZIONE

AUTORIZZAZIONE IN DEROGA

FUORI APPLICAZIONE D.Lgs 116/92

PARERE DEL COMITATO ETICO

FAVOREVOLE/ APPROVED



Osservazioni:

Lo studio è finalizzato a chiarire meccanismi patogenetici di malattie epatiche colestatiche (es.cirrosi biliare primitiva, colangite sclerosante primitiva) e meccanismi correttivi che presumibilmente si instaurano nelle fasi iniziali per facilitare l'eliminazione degli acidi biliari. In letteratura non sono presenti misure di CyP450, sottofamiglia 3A, e dei recettori nucleari che ne controllano l'espressione (Constitutive Androstane Receptor, CAR, e Pregnane X Receptor, PXR) in modelli animali di colestasi epatica. È stato dimostrato che l'attività del CYP3A diminuisce col progredire della disfunzione epatica, ma anche che l'aumento intraepatico di acidi biliari e di altri componenti della bile attiva CAR e PXR. Per spiegare questi risultati apparentemente discordanti, lo studio si propone di verificare come la colestasi modifichi l'espressione genica e proteica di due recettori nucleari (Constitutive Androstane Receptor-CAR e Pregnane X Receptor-PXR) e l'espressione genica e proteica e l'attività dei citocromi P450 della famiglia 3A (CYP3A1 e CYP3A2), enzimi la cui sintesi è controllata da CAR e PXR. La colestasi sarà effettuata in anestesia mediante ligatura del coledoco, taglio del dotto e sutura. Nel gruppo dei ratti di controllo (Sham) il coledoco verrà lasciato intatto. Sei settimane dopo l'intervento saranno sacrificati previa anestesia gassosa con isoflurano, 20 animali con legatura del coledoco e contemporaneamente 20 ratti di controllo (Sham) per ceppo. Il fegato verrà perfuso in situ con tampone fosfato, quindi rimosso e pesato. La gravità della colestasi sarà valutata sulla base di test di funzionalità epatica (AST, ALT, albumina e bilirubina seriche, GGT), volume di liquido ascitico, quando presente, e in base all'analisi istologica del fegato. Il sangue per le analisi e il campione di fegato per l'esame istologico saranno prelevati al momento del sacrificio. Preparazioni microsomiali e omogenati di fegato saranno utilizzati per determinare: 1) attività e cinetica degli enzimi CYP3A1 e CYP3A2; 2) espressione di CYP3A1, CYP3A2 e dei recettori nucleari che ne regolano la sintesi (CAR e PXR) mediante Western Blot; 3) livelli di mRNA che codificano CYP3A1, CYP3A2 e i recettori CAR e PXR, mediante qRT-PCR; 4) localizzazione dei recettori CAR e PXR in epatociti mediante immunocitochimica. Progetto chiaro nel quale sono stati giustificati risposta sperimentale, metodologia e numerosità del campione.

FIRMA/SIGNATURE:

Il Presidente CEASA/The CEASA's President

(prof. Massimo Riolfatti)

