

Приложение № 6

6. НЕТЕХНИЧЕСКО ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОЕКТ ЗА РАБОТА С ОПИТНИ ЖИВОТНИ

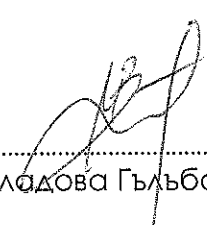
НАИМЕНОВАНИЕ НА ПРОЕКТА	Научен проект № 13/17 г. към Тракийски университет, субсидиран от MOMH: „Изследване на разпределение на мастоцитите в кожата, каротидното телце и главният мозък на плъх, както и в екстрахепаталните жлъчни пътища на домашната свиня в норма“.		
Продължителност на проекта	2 години		
Ключови думи	mast cells, tryptase, chymase, ghrelin, skin, carotid body, brain, rat, swine, gallbladder, ductus choledochus, papilla duodeni major.		
Цел на проекта (в съответствие с чл. 4 на Наредба 20 от 1 ноември 2012г. за минималните изисквания за защита и хуманно отношение към опитните животни и изискванията към обектите за използването, отглеждането и/или доставката им)	Фундаментални научни изследвания	Да	
	Транслационни или приложни изследвания		не
	Разработване, производство или изпитване на качеството, ефективността и безопасността на лекарства, храни и фуражи и други вещества или продукти		Не
	Защита на природната среда с оглед опазване здравето на хората и животните и тяхното благосъстояние		Не
	Изследвания, насочени към опазване на биологичните видове животни		Не
	За обучение с цел придобиване, поддържане или подобряване на професионалните умения в средните специални училища, колежите или висшите учебни заведения		Не
	Съдебномедицински изследвания		Не
	Поддържане на колонии от генетично изменени животни, които няма да бъдат използвани в други опити		Не
	Описание на целта на проекта: (нови научни постижения, медицински изследвания и др.)	Във връзка със задълбочаване на изследванията за мастоцитите, целта на проекта е да се допълнят данните за имунохистохимичните характеристики на мастоцитите, свързани с експресията на триптаза, химаза и грелин, както и за разпределението на различните типове мастоцити в изследваните органи	

	<p>на плъха и свинята.</p> <p>Задачи:</p> <p>1. Да се установи експресията на триптаза, химаза и грелина в мастоцитите в изследваните органи</p> <p>2. Да се определи разпределението на триптаза-, химаза- и грелин- позитивните мастоцити в изследваните органи, както и морфофункционален анализ на получените данни.</p> <p>За осъществяване на целите на проекта ще бъде проведено имунохистохимично изследване, чрез което ще се типизират мастоцитите и определи тяхната тъканна локализация и гъстота в органи на плъхове от различна възраст, както и в органи от свиня.</p>
<p>Потенциалните ползи от осъществяването на проекта: (ползи за здравето на човека и животните, научни постижения и др.)</p>	<p>Ще бъдат предоставени данни относно нормалната локализация и гъстота на различни типове мастоцити в органите на плъхове от различна възраст, както и в органи на домашната свиня. Получените стойности могат да бъдат използвани като референтни при диагностициране на мастоцитоза при различни заболявания.</p> <p><i>Очакванията на изследователския колектив са чрез получените данни и извършените анализи:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • да се внесе яснота по отношение имунохистохимичната експресия на триптазата, химазата и грелина в мастоцитите при изследваните животински видове; • да се определи нормалното разпределение на триптаза-, химаза- и грелин- позитивните мастоцитите в изследваните органи; <p>От голямо значение за нас е установяването на експресията на грелина в мастоцитите и тяхното разпределение, тъй като до този момент липсват такива данни. Резултатите от това изследване биха допълнили данните за локализацията на грелина в различни органи на плъха, като покажат, че той се експресира не само в ендокринните клетки, както е известно от редица изследвания, но и в мастоцитите. Оригинален принос ще имат и резултатите, свързани с установяване имунохистохимичната експресия на химаза и грелин в мастоцитите, локализиращи в екстрахепаталните жлъчни пътища при домашната свиня. В тази връзка настоящото изследване ще допълни данните относно експресията на грелина в имунните клетки, като докаже, че мастоцитите също експресират този пептид. Получените резултати биха послужили като основа на бъдещи изследвания относно ролята на мастоцитите, като източник на грелин, не само във физиологичните, но и в патологичните процеси, протичащи в нервната</p>

	<p>система, кожата и екстрахепаталните жлъчни пътища, особено като се има предвид обстоятелството, че плъха и свинята се считат за едни от най-подходящите животински модели за експериментални изследвания. Друг важен принос на нашето изследване е свързан с предоставяне на данни, които да допринесат за допълване на познанието за нормалното разпределение на различните типове мастоцити в изследваните органи, което да послужи като контрола при експериментални изследвания, свързани с промяна в броя на този тип клетки.</p>
<p>Вид и брой на опитните животни, които се очаква да бъдат използвани в проекта</p>	<p>18 броя плъхове, линия „Wistar”, за 2 години</p>
<p>Очаквани неблагоприятни ефекти, вероятното ниво на тежест на опитите и увреждане на животните, както и съдбата на животните след приключването на опитите</p>	<p>Опитът е с необратим край.</p>
<p>Въвеждане на принципите на заместване, намаляване и облекчаване</p>	
<p>1. Заместване: Обяснете защо е необходимо използването на опитни животни и защо не могат да бъдат приложени алтернативни методи</p>	<p>Използването на опитни животни е необходимо, за да бъдат постигнати целите на изследването – определяне на тъканната локализация на различни типове мастоцитити в материал, получен от свежи органи (отделени непосредствено след настъпване на смъртта) на плъхове. Само по този начин би могло да се гарантира прецизността при прилагането на имунохистохимични методи на доказване на триптаза, химаза и грелин и получаването на коректни резултати.</p> <p>При свинете обаче има възможност да бъде приложен алтернативен метод: използване на кланичен материал от регламентирана кланица, вместо живи животни. Полученият по този начин материал би могъл напълно да замести използването на живи животни, без това да повлияе прецизността на използваните имунохистохимични методи на изследване при определяне тъканната локализация на мастоцитите.</p>
<p>2. Намаляване: Обяснете как е осигурено използването на минимален брой животни</p>	<p>Броят на животните, които ще се използват, е сведен до минимум и е изчислен, съгласно изискванията на биостатистическите методи и на базата на опита на екипа при разработването на подобни проекти, свързани с морфологични изследвания. Използването на едни и същи органи от едни и същи плъхове дава възможност да бъде намален броят на опитните животни.</p>
<p>3. Облекчаване: ➤ Обяснете избора на животните и защо избраният модел на опитната постановка е най-облекчен;</p>	<p>За намаляване на стреса, опитните животни ще бъдат подходящо групирани и ще им бъде осигурен период на адаптация (10 дни) в експерименталната база на МФ в гр. Стара Загора, преди началото на</p>

<p>➤ Обяснете основните мерки, които са предприети за намаляване на страданието на животните</p>	<p>изследването при подходящи условия за живот и грижи.</p> <p>Инжектирането на параформалдехид интракардиално на плъховете ще се извършва еднократно, след анестезията им с кетамин/ксилазин 90/10 mg/kg i.p., като се използват игли с размер 25G. Смъртта на животните настъпва в резултат на проведената перфузия с параформалдехид, който позволява подходящо фиксиране на тъканите, запазващо структурните и биохимичните характеристики на клетките максимално близки до прижизненото състояние. За преодоляване на болката се използва посочената по-горе анестезия.</p> <p>Манипулацията е краткотрайна и се извършва максимално безболезнено от персонал с многогодишен опит.</p>
--	---

Дата...18.05.2017г.
Гр.Стара Загора


.....
/проф. д-р Мая Владова Гълъбова, дм/