

9. НЕТЕХНИЧЕСКО ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОЕКТ ЗА РАБОТА С ОПИТНИ ЖИВОТНИ

НАИМЕНОВАНИЕ НА ПРОЕКТА	Научен проект № 9/2016 г. към Тракийски университет, субсидиран от MOMH: „Проучване въздействието на някои хормони с антиоксидантен потенциал върху индукция и усложнения на експериментално индуциран захарен диабет тип 2“.		
Продължителност на проекта	2 години		
Ключови думи	Захарен диабет тип 2, инсулин, грелин, мелатонин, витамин Д, гладкомускулно съкращение, изолирани тъкани, дозозависими криви, компютърно моделиране.		
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	Да	
	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.)	<p>Цел на настоящия проект е да се изследва влиянието на хормоните грелин, мелатонин и витамин Д върху експериментален модел на захарен диабет тип 2 и неговите усложнения - гладкомускулна дисфункция и диабетна нефропатия, както и настъпилите промени в PAC.</p> <p>Експерименталните задачи поставени пред авторите на проекта са:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Да установят ефектите на самостоятелно приложени грелин, мелатонин и витамин Д върху развитието на индуциран с ниски дози стрептозотозин и фруктозна диета захарен диабет при бели плъхове линия Wistar; 2) Да проследят промяната в значими морфо-функционални и клинично-биохимични показатели, както и нивата на хормоните инсулин и грелин. 3) Да проучат развитието на усложненията на диабета като гладкомускулна дисфункция на стомашно-чревния тракт и пикочния мехур и диабетна нефропатия. 4) Да проследят промените в активността на PAC и 		

	<p>стойностите на артериалното кръвно налягане след самостоятелно въздействие на грелин, мелатонин и витамин Д.</p> <p>За осъществяване на целите на проекта ще бъдат проведени серия in vivo и in vitro експерименти, чрез които ще се проучи ефекта на проучваното вещество върху изследвания обект. Построяват се дозо-зависими и кумулативни криви, данните от които позволяват да се определят важни за последващите експерименти концентрации (дозы). За да се получи пълнота и точност по отношение на тези дози са необходими множество изследвания с различни концентрации на активното вещество и верифициране на резултатите чрез неколкостепенни повторения. При определяне на дозите обичайно се използват експериментални модели с животни, които за целите на in vitro изследването биват евтаназирани. От етична и икономическа гледна точка се търсят по-ефективни подходи при определянето на дозо-зависимите криви. Един такъв подход, който авторският колектив предлага, е използването на изолирани гладкомускулни тъканни ивици от различни органи. От едно животно могат да се изолират тъкани от множество различни органи, които да послужат за осъществяването на много опитни постановки. Чрез този подход значително се намалява броя на изследваните животни.</p> <p>Проучванията на авторския колектив ще бъдат с фокус върху развитието на контракциите на изолирани гладкомускулни сегменти от органите на храносмилателния тракт и пикочния мехур на интактни и диабетни плъхове под въздействие на грелин, мелатонин и витамин Д.</p> <p>Ще бъде проучен ефекта върху съкратителната активност на гастро-интестиналния тракт и пикочния мехур, който се получава от различни дози грелин, мелатонин и витамин Д. Кумулативни криви и криви доза-отговор ще бъдат построени със средствата на компютърното моделиране. Анализът и оценката на получените криви ще бъдат осъществени посредством специализирано програмно осигуряване.</p>
<p>Потенциалните ползи от осъществяването на проекта: (ползи за здравето на човека и животните, научни постижения и др.)</p>	<p><i>Ще бъде проучено въздействието на хормоните с антиоксидантен потенциал (грелин, мелатонин и витамин Д) върху индукцията и усложненията на експериментално индуциран захарен диабет тип.</i></p> <p><i>Очакванията на изследователския колектив са чрез получените данни и извършените анализи:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>да се внесе яснота по отношение интимните механизми на възникване на гладкомускулната дисфункция на органите на стомашно-чревния тракт и пикочния мехур;</i> • <i>да се получат преки или косвени доказателства за използваните от хормоните сигнални трансдукционни механизми;</i> • <i>да се докаже или отхвърли наличието на корелация между ефектите на хормоните върху оксидативния стрес и промените в гладкомускулната реактивност.</i> <p>Очакването на авторите е да бъдат получени доказателства за протективен ефект на грелина, мелатонина и витамин Д по отношение индукцията и усложненията на диабета.</p>
<p>Вид и брой на опитните животни, които се очаква да бъдат използвани в проекта</p>	<p>161 броя плъхове линия „Wistar“ за период от 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><i>Процедурите с плъхове от етап 1 на експерименталните проучвания са класифицирани според категорията тежест като «средни» с причиняване на краткотрайна, средна по тежест болка, причинена от инжектирането на вещество в перитонеалната кухина, които има вероятност да причинят средно влошаване на общото състояние на животните.</i></p> <p><i>Процедурите от етап 2 се извършват изцяло след прилагане на обща анестезия и евтаназия и се класифицират като „с необратим край». Плъховете ще бъдат пожертвани, тъй като за изследването са необходими техните органи. Умъртвяването ще бъде извършено хуманно под обща анестезия посредством евтаназия с висока доза анестетик.</i></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>За постигането на целите на проучването не могат да бъдат приложени алтернативни методи. За да бъде индуциран и верифициран диабет тип 2 е необходимо използването на опитни животни. Не е възможно да се осъществи проследяване на ефектите на грелина, мелатонина и витамин Д в процеса на индукцията на захарен диабет при хора, а също и след неговата индукция. Това е възможно да се направи само при животни, третирани със съответните хормони.</p> <p>Предвидено е да се извърши анализ и съпоставка на серия от параметри на <i>съкратителната активност</i> на гладкомускулни ивици от <i>пикочен мехур</i> и различни сегменти на <i>стомашно-чревния тракт</i> като: амплитуда, честота, интегрална мускулна сила, скорост на съкращение и отпускане. За да бъде определен ефекта от дадена доза грелин, мелатонин и витамин Д върху съкратителната активност на гладкомускулна тъкан от органи на храносмилателния тракт и пикочния мехур, се налага включване на експериментални животни в изследователската дейност, за да се използват техните органи след евтаназия.</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 на базата на опита на екипа при разработването на подобни експериментални постановки. Използването на множество гладкомускулни тъканни ивици от различни органи на едно животно в различни опитни постановки значително се намалява броя на изследваните животни.</p>
<p>3. Облекчаване:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Обяснете избора на животните и защо избраният модел на опитната постановка е най-облекчен; ➤ Обяснете основните мерки, които са предприети за намаляване на страданието на животните 	<p>За намаляване на стреса, опитните животни ще бъдат подходящо групирани и ще им бъде осигурен период на адаптация в експерименталната база преди началото на опитите при подходящи условия за живот и грижи.</p> <p>Инжектирането на вещества в перитонеалната кухина на плъхчетата ще се извършва еднократно, като се използват много тънки игли. Манипулацията е краткотрайна и се извършва максимално безболезнено от персонал с многогодишен опит. Понася добре от плъхчетата.</p> <p>Преди изолирането на органите, животните ще бъдат хуманно умъртвени посредством евтаназия с висока доза анестетик.</p>