

НАИМЕНОВАНИЕ НА ПРОЕКТА	Изследване на двигателна активност и морфологични промени на висцерална гладка мускулатура при експериментално предизвикан захарен диабет при плъхове		
Продължителност на проекта	1 година		
Ключови думи	експериментален диабет, <i>in vitro</i> моторна активност, имунохистохимия, колон, ректум		
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	
	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>Изследване на морфологични и функционални промени в ентерални неврони в коло-ректо-аналната област на плъх при стрептозотоцин-индуциран захарен диабет чрез имунохистохимични методи и <i>in vitro</i> моторни отговори на гладкомускулни препарати при прилагане на вещества агонисти и/или антагонисти на основни невротрансмитери.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Натрупване на нови данни за морфологичните и функционални промени, развиващи се при диабет и лежащи в основата на диабетната гастро-интестинална дисфункция, като проява на изменения в ентералната нервна система.</li> <li>• Изследване на ефектите на субстанции, повлияващи азотнооксидната трансмисия върху изолирана от плъх <i>a. ophthalmica</i> с цел оценка на ендотелната функция /дисфункция при животни с диабет, за което няма данни в достъпната литература (тези изследвания са предвидени допълнително, като при получаване на промени в съдовете ще се продължи работата с използване на нови антидиабетични лекарства за оценка на ефекта им върху</li> </ul>		

	ендотелната дисфункция).
<p>Потенциалните ползи от осъществяването на проекта: (ползи за здравето на човека и животните, научни постижения и др.)</p>	<p><u>Прогнозирани научни ползи:</u>  <u>С теоретична насоченост</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Установяване на промените в двигателната активност на колона и аноректум при експериментален модел на диабет при плъхове - понижена или повишена спонтанна и електрически предизвикана съкратителна активност на гладката мускулатура;</li> <li>• Установяване на ефекта на вещества агонисти и антагонисти на основни възбуждащи и потискащи медиатори върху моторните отговори на препарати от животни с експериментален диабет и сравняване с контролите;</li> <li>• Установяване на промените в разпределението и плътността на холинацетилтрансфераза-, никотинамид аденин динуклеотид фосфат-диафороза-, субстанция Р- и АТР-синтаза-съдържащи нервни структури в коло-ректо-аналната област на плъхове със стрептозотоцин-предизвикан диабет;</li> <li>• Получаване на нови данни за промени на ендотелната функция в изолирана от плъх <i>a. ophthalmica</i>.</li> </ul> <p><u>С практическа насоченост</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Познаването на механизмите, по които диабетът нанася структурни, функционални и молекулярни промени в висцералната гладка мускулатура и съдовия ендотел, може да открие нови посоки при изследванията на диабета, а следователно и да предлага алтернативни механизми за лечение на усложненията свързани с диабетната хипергликемия.</li> <li>• Може да се прецени ефектът на лекарства холинолитици, антагонисти на субстанция П, донори и блокери на синтезата на азотен оксид, антагонисти на пуринергичните рецептори върху нарушенията в мотилитет на гастроинтестиналния тракт при диабет.</li> </ul> <p><u>Образователна стойност:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Част от участниците в проекта ще се обучат в изследване на двигателна активност на изолирани гладкомускулни препарати; в статистическа обработка и анализ на данни и интерпретиране на експерименталните резултати.</li> </ul>
<p>Вид и брой на опитните животни, които се очаква да бъдат използвани в проекта</p>	<p>Експериментите ще бъдат проведени върху 36 мъжки бели плъхове порода <i>Sprague Dawley</i> с тегло 250-300 грама, около 3-месечна възраст.</p>
<p>Очаквани неблагоприятни ефекти, вероятното ниво на тежест на опитите и увреждане на животните, както и съдбата на животните след</p>	<p><u>Класификация на тежестта на опитите:</u>  Опити с необратим край, защото експерименталните обекти за изследване на моторната активност са изолиран дистален колон, аноректум и арт. офталмика на плъх.  Евтаназията на животните ще се извършва чрез използване на физични методи - след внимателно обездвижване с</p>

<p><b>приключването на опитите</b></p>	<p>палеца и показалеца ще се извършва цервикална дислокация. Неприложими са медикаменти за умъртвяване на животните, защото се повлиява моторната активността на гладката мускулатура.</p>
<p><b>Въвеждане на принципите на заместване, намаляване и облекчаване</b>  <b>1. Заместване:</b>          Обяснете защо е необходимо използването на опитни животни и защо не могат да бъдат приложени алтернативни методи</p>	<p>Не могат да се използват алтернативни методи за изследване на рефлексните пътища, участващи в реализиране на двигателната активност в гастроинтестиналния тракт. Използването на по-дребни животни затруднява получаването на изолиран препарат. Плъховете са обект на нашите експерименталните изследвания, защото те са репрезентативен животински вид, с добре проучени промени в инервацията на СЧТ по време на развитие, съзряване и стареене [Phillips a. Powley, 2007]. Между хора и плъхове има морфологични прилики на микроскопско ниво и двигателната активност е сходна [DeSesso a. Jacobson, 2001].          Моделите за диабет-индуцираната ангиопатия са деликатни, гризачите са по-резистентни към типичните диабетни съдови промени (Renard a. Van Obberghen, 2006) и тъй като има описани съдови примени в плъховете порода <i>Sprague Dawley</i>, ние ще използваме такива животни в експериментите с тенденция, ако се получат адекватни резултати, да се продължи по-нататък работата с лекарства и се оцени ефектът им върху диабетната ангиопатия.</p>
<p><b>2. Намаляване:</b>          Обяснете как е осигурено използването на минимален брой животни</p>	<p>Броят на опитните животни е сведен до минимум; 12 от тях ще се използват за имунохистохимични морфологични изследвания. Това е минимален брой, като се има предвид, че не всички изолирани препарати заработват и дават моторни отговори при електрическа стимулация.</p>
<p><b>3. Облекчаване:</b>          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>	<p>Експерименталните животни ще бъдат отглеждани, хранени във Вивариума, при температура 20 - 24°C, 50 - 60 % влажност, 12:12 h светъл-тъмен цикъл и свободен достъп до храна и вода. Ежедневна проверка на здравословното състояние на животните и условията на заобикалящата ги среда, както и хранене, почистване и поене на плъхчетата ще се извършва от служителите във Вивариума. Ежедневното проследяване на животните, няколкократно измерване на нивото на кръвната захар ще се извършва от някои участниците в проекта, ветеринарния лекар и лаборантите от сектора по Фармакология. Определянето на кръвната захар ще се извършва чрез тест-ленти и глюкомер Codefree. Кръвта ще се взема от опашната вена. Плъхът се обездвижва, като се поставя в пластмасово приспособление, така че опашката остава свободна навън. За да се улесни пунктирането на вената, опашката се хиперемеира чрез потапяне в топла вода (40°C) за 2-3 мин.          Нощта, преди извършване на експериментите с изолирани органи животните се оставят на глад, за да се осигури добро изпражнение на чревния тракт.</p>