

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Botulinum toksin, mozak i bol	
Trajanje projekta	1.9.2015-31.12.2015	
Ključne riječi (najviše do 5)	Botulinum toksin tipa A, nocicepcija, migrena, upala, dura	
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):	
	Temeljno istraživanje	☒ da ne
	Translacijska i primijenjena istraživanja	da ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja	da ne
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje	da ne
	Očuvanje vrste	da ne
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje	da ne
	Forenzička ispitivanja	da ne
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima	da ne
Opišite ciljeve projekta (na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Kao jedna od vodećih skupina koja istražuje antinociceptivno djelovanje botulinum toksina tipa A (BTX-A), nedavno smo pokazali povezanost opioidnog sustava sa središnjim djelovanjem BTX-A, u što bi mogle biti uključene i glija stanice. Pokazali smo i da bolna manipulacija u području trigeminalne inervacije uzrokuje neurogenu upalu dure, što se može spriječiti primjenom BTX-A. Kako bi detaljnije istražili mehanizme djelovanja BTX-A glavni ciljevi su: specifični ciljevi su istražiti utječe li BTX-A na: 1. ekspresiju opioidnih receptora i opioidnih peptida; 2. aktivaciju mikroglije i astrocita; te 3. ekspresiju citokina. Sve će se analize raditi na uzorcima kralješnične moždine i/ili senzornih ganglija štakora nakon ozljede perifernog živca. Prethodno smo pokazali da BTX-A smanjuje bol i u području trigeminalne inervacije, kao i prateću ekstrasvazaciju proteina u duru. Time smo otvorili novo područje istraživanja povezanosti boli u području glave s upalom moždanih ovojnica. Kako bi okarakterizirali taj fenomen cilj nam je u tkivu dure: 4. dokazati moguću aktivaciju glija stanica, te 5. ispitati ekspresiju TNF-alfa, IL-1beta, IL-8, inducibilne NO sintaze i galektina-3. Ovi pokusi će bitno pridonijeti razumijevanju fenomena neurogene upale koji je prisutan i kod migrene, te razumijevanju antinociceptivnog učinka BTX-A.	
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprjeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Predložena istraživanja mogu objasniti učinke BTX-A na kroničnu bol i migrenu što može značajno unaprijediti njegovu kliničku primjenu.	
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Štakori, soj Wistar, 170 životinja	
U kontekstu onoga što se radina životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Svi predloženi pokusi se klasificiraju kao umjereni, po definiciji Pravilnika o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN 055/2013), prilog broj VII	
Primjena načela 3R		
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti	Istraživanje nocicepcije i analgezije nije moguće provesti <i>in vitro</i> , jer su u ovakvom tipu istraživanja prijeko potrebna	

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	bihevioralna mjerenja. Glodavci (miševi i štakori) su najčešće korišteni u istraživanjima nocicepcije i analgezije, s velikim brojem raznih, dobro okarakteriziranih protokola i modela koji pokušavaju oponašati različite tipove boli u ljudi. Također se koriste zbog mogućnosti praćenja bihevioralnih, anatomskih, fizioloških i biokemijskih promjena koje se inače ne mogu pratiti kod ljudi ili kultura stanica. Upravo iz tog razloga, glodavci predstavljaju trenutno najprihvatljivije rješenje.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	U pokusima koristimo minimalan broj životinja, potreban za dobivanje pouzdanih rezultata i zadovoljavanje statističkih kriterija. To zahtijeva 5-6 životinja po eksperimentalnoj grupi u većini pokusa.
3. Poboljšanje Objasniti izbor vrsta i zašto su korišteni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve. Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje.	Životinjama će se omogućiti uvjeti mikrookoliša (dovoljno veliki kavez) i makrookoliša (ciklus izmjene svjetla i tame 12/12 h, temperatura 23 C, vlaga 50%) u skladu s propisima i preporukama (npr. obogaćivanje životnog prostora). Radi redukcije stresa, životinju će se na svaki postupak i manipulaciju navikavati prije pokusa, a tijekom mjerenja će se izbjegavati čimbenici poput prejakog svjetla koje uzrokuje anksioznost i stres. Hrana će im biti ponuđena <i>ad libitum</i> osim u vrijeme testiranja praga podražaja (kratki period). Prema dosadašnjem iskustvu, životinje su pokretne i nije im potrebno hranu stavljati u stelju