

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Kalcijски kanali regulirani naponom kao terapijska meta za dijabetičku neuropatiju		
Trajanje projekta	60 mjeseci		
Ključne riječi (najviše do 5)	Dijabetička neuropatija, bol, spinalni ganglij, dorzalni rog, štakor		
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).	Brojna istraživanja, uključujući i ona iz našeg Laboratorija za istraživanje boli, potvrdila su da su spinalni gangliji (DRG) važno mjesto patofizioloških promjena kod životinja s dijabetičkom neuropatijom kojima je eksperimentalno izazvan dijabetes tipa 1 i tipa 2. Smatra se da kalcijски kanali regulirani naponom (VGCC) i promjene u njihovom izražaju doprinose razvoju i održavanju boli. Cilj ovog projekta je istražiti modulaciju kalcijских kanala reguliranih naponom karakterizacijom učinka njihovih antagonista neovisnih i ovisnih o stanju aktivacije na osjetne neurone spinalnog ganglija i dorzalnog roga u modelima pokusne dijabetičke neuropatije.	
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Znanstveni doprinos ovog istraživanja je karakteriziranje izražaja i distribucije specifičnih podjedinica VGCC-a u spinalnim ganglijima te u kralježničkoj moždini kod životinja s eksperimentalnom izazvanom dijabetičkom neuropatijom, te rasvjetljavanje mogućeg terapeutskeg potencijala primjene antagonista VGCC-a neovisnih i ovisnih o stanju aktivacije za liječenje dijabetičke neuropatije		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Koristit će se štakori soja Sprague Dawley, težine 150 g. Broj životinja iznosi 240 životinja.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Prema planiranom protokolu, životinjama će biti injiciran streptozotocin sa svrhom izazivanja dijabetesa tipa 1 i dijabetičke neuropatije, te u drugoj skupini životinje će biti hranjene masnom hranom u svrhu izazivanja dijabetesa tipa 2. Životinjama u pokusnoj skupini bit će intraganglijski ili oralno administrirani antagonisti VGCC-a te će se pratiti promjena ponašanja kroz vrijeme. Za pokus će se koristiti životinje koje su razvile dijabetes i dijabetičnu neuropatiju. Na kraju pokusa životinje će biti žrtvovane u dubokoj anesteziji. Očekivane ciljeve istraživanja nije moguće postići drugim metodama. To je umjeren pokus, a negativni učinci su sam dijabetes kojeg karakterizira polifagija, polidipsija i poliurija, te dijabetička neuropatija.		
Primjena načela 3R			
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje	U modelu dijabetičke neuropatije rezultat intervencije može se promatrati samo promatrajući sveukupnost ponašanja štakora, kao i patohistološke promjene u gangliju i kralježničkoj moždini nastale kao rezultat integriranog odgovora organizma.		
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Za svaki eksperiment uzet je minimalni broj životinja koji daje prihvatljivu statističku snagu, temeljem prethodnih istraživanja. Na taj način osigurava se korištenje minimalnog broja životinja koji jamči		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	snagu studije i pouzdanost dobivenih rezultata, a bez potrebe za ponavljanjem pokusa. Osim spinalnih ganglija i kralježničke moždine, od žrtvovanih životinja uzet će se uzorci drugih tkiva i organa koji će se pohraniti u vidu banke tkiva i organa, te kasnije poslužiti u drugim pokusima, time izbjegavajući eventualne potrebe za ponavljanjem sličnih 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.	Štakori soja Sprague Dawley predstavljaju standardni model eksperimentalnih životinja koje se koriste u neuroznanosti. Na taj način osigurana je usporedivost rezultata. Sve zahvate provodit će iskusni istraživač te će se tako smanjiti na minimalan broj neuspjelih zahvata i dodatne ozljede životinja. Intraganglijsko injiciranje tvari i behavioralna promatranja obavljat će iskusna osoba te će na taj način biti osiguran adekvatni postupak sa životinjama i smanjiti razinu nelagode životinja tijekom ovih postupaka. Gore navedeno smanjit će varijabilnost na najmanju mjeru te doprinijeti smanjenju broja upotrijebljenih životinja.