

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Motorički učinci klostridijskih neurotoksina u središnjem živčanom sustavu (MEFCLO)		
Trajanje projekta	1.2.2020.-1.2.2025.		
Ključne riječi (najviše do 5)	botulinum toksin, tetanus toksin, fokalna distonija, spasticitet, eksperimentalni modeli		
	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).	Cilj istraživanja je pomoću vrlo malih doza tetanus toksina i botulinum toksina tipa A primijenjenih u mišić ili u određene regije središnjeg živčanog sustava izazvati hiperkineziju i hipertoniju prisutnu kod spasticiteta ili distonija. U životinja s hiperkinezijom, karakterizirat će se učinci botulinum toksina u motornim vlaknima, te centralnim neuronima leđne moždine i moždanog debla. U istraživanjima će se koristiti videoanalize hoda i motorički testovi u normalnih i hiperkinetičkih životinja. Učinci toksina će biti okarakterizirani elektromiografskim mjerenjima spinalnih refleksa te analizom ekspresije neurotransmitora i proteinskih markera. Očekivani znanstveni rezultati bit će zanimljivi u polju neurologije kao iskorak u pretkliničkom ispitivanju novih terapijskih pristupa u liječenju poremećaja pokreta te zbog temeljnih saznanja vezanih uz plastičnost senzornomotoričkog sustava i mehanizama utjecaja klostridijskih neurotoksina na središnji živčani sustav.		
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).	Istraživanja bi mogla proširiti broj dostupnih farmakoloških modela fokalnih hiperkinetskih poremećaja pokreta na eksperimentalnim životinjama, te rasvijetliti mehanizam djelovanja botulinum toksina, najučinkovitijeg lijeka za tretman idiopatskih poremećaja pokreta.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Štakori, soj Wistar, 176 životinja		
U kontekstu onoga što se radina životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Budući da se u životinja uzrokuje lokalni spazam mišića vrata i udova, za očekivati je privremeno otežano kretanje i promijenjen položaj udova. Spazam mišića nastupa od 3-5 dana nakon intramuskularnog davanja tetanus toksina. Po završetku pokusa, životinje će se žrtvovati s ciljem skupljanja uzoraka za daljnje biokemijske analize. 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 životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Istraživanje fokalnih neuroloških poremećaja pokreta nije moguće provesti <i>in vitro</i> , jer su u ovakvom tipu istraživanja prijeko potrebna bihevioralna mjerenja motorike.		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

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 kod bihevioralnih i biokemijskih analiza. Za izračun veličine uzorka koristili smo <i>a priori</i> analizu snage studije na osnovu magnitude predviđenog učinka, i uzeli u obzir moguću atriciju (moguće osipanje ili isključenje iz pokusa pojedinih životinja zbog različitih uzroka). To zahtijeva 8 životinja po eksperimentalnoj grupi.
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.	Glodavci (miševi i štakori) su najčešće korišteni u pretkliničkim istraživanjima neuroloških poremećaja pokreta, s raznim modelima koji pokušavaju oponašati različite tipove poremećaja u ljudi. Također se koriste zbog mogućnosti praćenja bihevioralnih, anatomskih, fizioloških i biokemijskih promjena koje se inače ne mogu pratiti kod ljudi ili na kulturama stanica. 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 ili buke koji uzrokuju anksioznost i stres. Hrana će im biti ponuđena <i>ad libitum</i> osim u vrijeme testiranja (kratki period). Prema dosadašnjem iskustvu, životinje su pokretne i nije im potrebno hranu stavljati u stelju