

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Poremećena vazorelaksacija i endotelno leukocitna interakcija u razvoju aterosklerotskih lezija		
Trajanje projekta	4 godine		
Ključne riječi (najviše do 5)	poremećena vazodilatacija, interakcije endotela, aterosklerotske lezije		
	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 projekta je odrediti ulogu (1) poremećene vazodilatacije i (2) endotelno leukocitne interakcije tijekom povećanog unosa soli u razvoju aterosklerotskih lezija		
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).	Rezultati ove studije pomoći će u rasvjetljavanju patomehanizama razvoja aterosklerotskih lezija. Bolje razumijevanje je nužno kako radi razvijanja novih strategija u prevenciji razvoja ateroskleroze i posljedičnih cerebrovaskularnih incidenata, tako i u razvijanju novih terapeutika.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	1. Sprague-Dawley (SD) štakori 2. TFF3^{-/-} transgenični miševi 3. 129/Sv divlji soj miševa Na temelju dosadašnjih iskustava, predviđeni broj životinja je: 200 Sprague-Dawley (SD) štakora, 200 TFF3^{-/-} transgeničnih miševa i 200 129/Sv divljeg soja miševa.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Obzirom na planirane protokole, ne očekujemo negativne učinke na životinje. Istraživači koji će raditi na projektu koristi će minimalni broj životinja neophodan za testiranje postavljenih hipoteza. Također, primjenjivat će adekvatnu analgeziju i anesteziju. Pregledom dostupne literature, utvrdili smo da su isti modeli (unos 4% NaCl kroz 1-4 tjedna) korišteni u prethodnim studijama te da nije utvrđen takav negativni utjecaj koji bi značajno smanjio kvalitetu životinja ili izazvao patnju tijekom eksperimenta. Težina pokusa planiranih u ovom projektu se mogu klasificirati kao nepovratni, blagi i umjereni. Prilokom pokusa umjere težine koristit će se primjerena analgezija i anestezija u perioperativnom razdoblju te će životinjama biti omogućen pristup alatima za obogaćivanje sredine (scobis stelja, papirnati tubusi i kućice itd).		
Primjena načela 3R			
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	U procesu vazodilatacije krvnih žila sudjeluju brojni enzimi i metabolički putevi u endotelnim stanicama i glatkim mišićnim stanicama, ali i vazoaktivne tvari koje se putem krvi dopremaju u udaljene krvne žile. Obzirom da je		

	sudjelovanje pojedinih vazoaktivnih tvari u funkcionalnim promjenama tonusa krvnih žila u zdravlju i bolesti iznimno dinamičan proces, u istraživanjima na tom području neophodno je odrediti kako koncentracije vazoaktivnih rvari, tako i ekspresiju (gensku i proteinsku) enzima koji sudjeluju u njihovoj sintezi. U tu svrhu nužno je prikupiti uzorake tkiva (krvne žile mozga, a. carotis, aorta, jetra) što nije moguće kod humanih modela. Iz gore navedenog proizlazi nužnost uključivanja animalnih modela u ovu studiju.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Na temelju rezultata preliminarnih studija u kojima će biti uključeno 5 životinja po soju/skupini/tretmanu izračunati ćemo minimalni broj životinja neophodan za postizanje statističke značajnosti od $p < 0,05$ i snage testa od $\alpha = 0,08$ pomoću statističkog programa Sigma Plot (inačica 11.0, Systat Software, Inc., San Jose, CA 95110 USA). Na temelju dosadašnjih iskustava, predviđeni broj životinja je: 200 kom Sprague-Dawley (SD) štakora, 200 kom TFF3^{-/-} transgenični miševi i 100 kom 129/Sv divlji soj miševa.
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.	Korištenje SD štakora je najčešće primjenjivan model u istraživanjima učinaka povećanog unosa sol te u funkcionalnim studijama na području mikrocirkulacije. Nadalje, obzirom da su naša prethodna istraživanja, kao i istraživanja drugih pokazala da metaboliti arahidonske kiseline imaju determinantnu ulogu u razvoju patoloških procesa u krvnim žilama, odlučili smo u istraživanje uključiti transgenične miševe kojima nedostaje TFF3 gen što za posljedicu ima promjenjen metabolizam polinezasićenih masnih kiselina i metabolizma arahidonske kiseline. Tijekom pokusa istraživači će primjenjivat propisanu analgeziju i anesteziju. Pregledom dostupne literature, utvrdili smo da su isti modeli (unos 4% NaCl kroz 1-4 tjedna) korišteni u prethodnim studijama te da nije utvrđen takav negativni utjecaj koji bi značajno smanjio kvalitetu životinja ili izazvao patnju tijekom eksperimenta.