

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Translacijsko istraživanje neuroplastičnosti disanja i učinak ponavljane hipoksije i hiperkapnije u anesteziji i spavanju		
Trajanje projekta	4 godine		
Ključne riječi (najviše do 5)	disanje, simpatički živčani sustav, hipoksija, opstruktivska apneja tijekom spavanja		
	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).	Respiracijski i kardiovaskularni sustavi djeluju sinkronizirano kako bi omogućili održavanje točno određenih vrijednosti parcijalnog tlaka kisika i ugljičnog dioksida, te transport plinova prema tkivima, odnosno od tkiva. Cilj predloženog projekta je istražiti promjene u parametrima disanja mjerenjem aktivnosti freničkoga živca, te promjene simpatičke živčane aktivnosti, mjerene aktivnošću renalnog živca, koje nastaju kao posljedica ponavljanih hiperkapnija i hipoksija u štakora. Ponavljane hiperkapnije javljaju se prilikom povremenih zastoja disanja u osoba s opstruktivskom apnejom tijekom spavanja (OSA). Oboljeli od OSA-e imaju niz popratnih bolesti, uključujući arterijsku hipertenziju, čiji se nastanak dovodi u svezu s povećanjem simpatičke živčane aktivnosti i povećanjem osjetljivosti kardiovaskularnog i respiracijskog sustava na hipoksiju. Uloga ponavljane hiperkapnije i hipoksije, mehanizam nastanka, te uključene strukture središnjeg živčanog sustava, neuralna mreža i signalne molekule nisu u potpunosti poznate i velikim su dijelom znanstvena nepoznanica. Cilj predloženog projekta je istražiti ulogu različitih neurotransmitera u akutnom odgovoru na hiperkapnijski podražaj na modelu anesteziranog štakora.		
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).	Predloženi model ponavljanih hiperkapnijskih i hipoksijskih epizoda dijelom oponaša ponavljane epizode apneje tijekom spavanja u pacijenata koji boluju od OSA-e. Navedeni model može poslužiti za istraživanje mehanizama odgovornih za nastanak opstruktivske apneje tijekom spavanja. Izloženost akutnim ponavljanim hiperkapnijama i hipoksijama može dovesti do nastanka kratkoročnih i dugoročnih promjena aktivnosti freničkog živca, kao i do porasta simpatičke živčane aktivnosti u OSA pacijenata. Predloženo istraživanje bit će korisno za razumijevanje mehanizma nastanka i održavanja fenomena respiracijske i simpatičke plastičnosti, nadopunit će postojeća znanja o navedenoj problematici, a rezultati istraživanja bit će objavljeni u poznatim svjetskim časopisima te tako biti dostupni znanstvenoj zajednici diljem svijeta.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Štakori, Sprague Dawley, ukupno 100 životinja		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Pokusi su nepovratni. Tijekom pokusa životinje su u dubokoj anesteziji i ne trpe bol. Po završetku pokusa, životinje se eutanaziraju dodatnom dozom anestetika i zasićenom otopinom kalijeva klorida u skladu s uputstvima American Veterinary Medical Association Panel on Euthanasia i Pravilnikom (NN 55/13). Naime, nakon kirurškog zahvata koji uključuje kateterizaciju krvnih žila, prepariranje i		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	<i>snimanje živca te kraniotomiju, oporavak bi bio dugotrajan i bolan. Stoga smatramo da je etički životinju poštediti boli buđenja iz anestezije i oporavka od kirurškog zahvata</i>	
Primjena načela 3R		
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	<i>Za dostizanje izabranog cilja rasvjetljavanja mehanizma i uloge signalnih putova u mozgu sisavaca u respiracijskoj plastičnosti i aktivnosti simpatičkog živčanog sustava nije moguće koristiti metodu koja isključuje rad na životinjama</i>	
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	<i>Broj životinja korišten u pokusu je najmanji mogući (ukupno 7 do 9 životinja po skupini) na kojem je moguće dokazati hipotezu istraživanja, što je utvrđeno izračunom veličine uzorka korištenjem računalnog programa Med-Calc (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija) uz 90% snage i razinu pogreške alfa od 0,05. Dosadašnje publikacije i doktorati izrađeni pri Zavodu za neuroznanost dokaz su znanstvene produktivnosti.</i>	
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.	<i>Kratkoročne i dugoročne promjene disanja i simpatičke aktivnosti mjerene su snimanjem aktivnosti freničkog i renalnog simpatičkog živca na in vivo modelu duboko anesteziranih životinja. Dugoročna facilitacija disanja i simpatičke živčane aktivnosti pronađena je u mnogih životinjskih vrsta. Međutim, do sada su mehanizmi nastanka i manifestacije navedenih promjena najčešće proučavani na modelu anesteziranoga štakora, te je upravo štakor predložen kao najbolja životinjska vrsta za predloženi pokus. Predloženi pokusi su nepovratni. Na samom početku pokusa, prije izvođenja bilo kakvog zahvata životinja će biti anestezirana intraperitonealnom injekcijom uretana (početna doza 1,2 g/kg intraperitonealno, te dodatne doze od 0,9 g/kg intravenski po potrebi ukoliko postoje pozitivni refleksi povlačenja stražnje šape ili kornelani refleks). Nakon što životinja postigne duboku anesteziju i ne odgovara na kornealni podražaj ili stiskanje šapice pristupa se izvođenju pokusa. Ukoliko postoji pozitivan iti jedan od ispitivanih znakova dubine anestezije, intraperitonealno će se dodati još 0,5 g/kg uretana te pričekati 10-15 minuta kako bi se postigla odgovarajuća dubina anestezije, a ispitivani refleksi postali negativni. Životinja neće trpjeti bol, a sama neugoda svest će se na početnu injekciju anestetika. Na kraju pokusa, životinja će u dubokoj anesteziji biti predložirana zasićenom otopinom KCl i.v.</i>	
Potrebna retroaktivna procjena projekta (upisuje nadležno tijelo)	da	ne
Rezultat retroaktivne procjene projekta (upisuje nadležno tijelo)		