

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Novi pristup proučavanju funkcije matičnih živčanih stanica i novi farmaceutski dizajn za bolje razumijevanje autoimunih i stresom izazvanih neuropsihijatrijskih poremećaja.		
Trajanje projekta	15.01.2014. ---15.01.2015.		
Ključne riječi (najviše do 5)	matične živčane stanice, dijabetes, hipokampus, glikozilacija proteina		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):		
	Temeljno istraživanje	da	
	Translacijska i primijenjena istraživanja		ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja		ne
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje		ne
	Očuvanje vrste		ne
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje		ne
	Forenzička ispitivanja		ne
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima		ne
Opišite ciljeve projekta (<i>na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe</i>).	Razumijevanje imunopatogeneze autoimunih bolesti predstavlja jedno od glavnih izazova u suvremenoj medicini. Predloženim projektom istraživati će se poremećaji u imunološkom i živčanom sustavu prisutnim u autoimunim bolestima koje karakterizira promijenjena glikozilacija proteina u neurogenoj regiji mozga-hipokampusu te na matičnim živčanim stanicama. Istraživanje će, između ostalog uključiti upotrebu farmakološki prihvatljivog animalnog modela za autoimunu bolest dijabetes tip I, NOD miš (non-obese diabetic mice). Na tom animalnom modelu prisutne su neke karakteristike bolesti poput: disregulacije HPA osovine, povećane podložnosti stresu, oštećenje živaca u hipokampusu koje vodi do atrofije piramidarnih neurona i smanjene neurogeneze, etc (Beauquis et al, 2008) (Harbuz et al., 2006).		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (<i>kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta</i>).	Očekivani rezultati doprinjeli bi k boljem razumijevanju mehanizama i posljedica neravnoteže u imunološkom i živčanom sustavu prisutnima u autoimunim bolestima. Imunološka reaktivnost i signalizacija smatra se ključnim negativnim regulatorom funkcije HPA osovine kod neurogeneze u odraslih. Bolje razumijevanje neurogeneze, odnosno funkcije matičnih živčanih stanica u regulaciji HPA osovine u zdravlju i bolesti otvoriti će put k pronalaženju ciljanih terapija za ublažavanje psihijatrijskih i kompleksnih imunoloških poremećaja.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	NOD (30), CD1 30		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Miševi će se žrtvovati cervikalnom dislokacijom. Životinje neće biti izložene boli niti stresu prije korištenja u pokusu. Pokus je nepovratan.		
Primjena načela 3R			
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Ne postoje metode koja bi isključivale upotrebu životinja jer su potrebne primarne kulture matičnih živčanih stanica koje se izoliraju iz mozga životinja za što su potrebni specifični animalni modeli odnosno miševi iz kojih će se izolirati hipokampus te subventrikularne zone. Postoje banke stanica no one ne sadrže matične živčane stanice uzete iz ovog animalnog modela NOD-dijabetički miševi.		
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano	Prilikom dizajniranja pokusa uzeta su u obzir načela 3R. Izvorne matične živčane stanice odnosno primarne i sekundarne kulture		

korištenje minimalnog broja životinja.	dobivene izolacijom iz mozгова NOD miševa koji boluje od šećerne bolesti nisu komercijalno dostupne već ih treba postaviti. Da bi se postavila jedna primarna kultura za inicijalan pokus je potrebno 8 mozgov miševa kojima se izolira subventrikularna zona i sakupi te nakon enzimatskog i mehaničkog tretiranja nasađuje kao suspenzijska kultura. Kupiti se mogu samo neke linije matičnih živčanih stanica, najčešće uzete od štakora, koje su promijenjene zbog manipuliranja u laboratoriju kroz veći niz pasaža i koje u cijelosti ne odgovaraju ciljevima i potrebama ovog projekta. U projektu je naveden maksimalan broj životinja no za očekivati je da će se upotrijebiti manji broj od predviđenog u slučaju da sve postavljene kulture uspješno porastu već pri prvom pokušaju izolacije. Također, uračunat je minimalan broj životinja potreban za dobivanje rezultata koji bi mogli dati statističku značajnost. U pravilu to je 6-10 životinja po zadanom uvjetu. Višak životinja neće se upotrijebiti u pokusu.
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.	Iz literaturnih podataka i istraživanja na odraslim NOD miševima uočena je hiperaktivnost HPA osovine uz povišene adrenalne glukokortikoidne hormone, potvrđena je značajna podložnost stresu, astroglioza i oštećenje živaca u hipokampusu. Neurogeneza u dentatnom girusu također je zahvaćena bolešću uz značajno smanjene proliferacije i diferencijacije matičnih stanica i neuralnih progenitora, izmjereno imunocitokemijskom detekcijom bromdeoksiuridinom. (Beauquis et al, 2008). Iz tog razloga ovaj soj miševa je najbolji za predložene pokuse te je za očekivati da postoje promjene u glikozilaciji proteina u hipokampusu kao i na matičnim živčanim stanicama. Sve životinje u pokusu držati će se u fiziološkim uvjetima i za to odobrenim prostorijama.