

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Perinatalni citomegalovirusni encefalitis		
Trajanje projekta	12.03.2014.-31.12.2016. * pokusi koji uključuju laboratorijske životinje provode se od 2015. godine do 31.12.2016.		
Ključne riječi (najviše do 5)	Citomegalovirus, razvoj mozga, imuni odgovor, encefalitis, mali mozak		
	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).	Predloženo znanstveno istraživanje usmjereno je na humani citomegalovirus, koji je jedan je od najznačajnijih virusnih uzročnika neuroloških oštećenja kod djece i vodeći uzročnik kongenitalnog gubitka sluha djece u razvijenim zemljama. Projektom je predviđeno istraživanje na laboratorijskim miševima, uzimajući u obzir korištenje mišjeg (MCMV) i humanog (HCMV) citomegalovirusa kao modela za istraživanje utjecaja virusa na mozak u razvoju, uloge urođene imunosti, te načina suradnje čimbenika urođene i stečene imunosti u odstranjenju virusa iz mozga. Istraživanjem će se nastojati odrediti točan način ulaska MCMV u mozak kod perinatalne infekcije miševa, definirati ulogu urođene imunosti u ranoj kontroli MCMV infekcije u središnjem živčanom sustavu (SZS) čovjeka, definirati ulogu CD4+ i CD8+ limfocita T u kontroli virusne replikacije u mozgu, odrediti ulogu CD8+ limfocita T u perzistentnoj MCMV infekciji mozga te odrediti tip i uzroke nastanka oštećenja struktura unutarnjeg uha kod CMV infekcije.		
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).	Rezultati ovog istraživanja trebali bi razjasniti neke važne činjenice vezane za MCMV infekciju novorođenih miševa i nastanka perzistentne infekcije mozga te doprinijeti boljem razumijevanju kongenitalne HCMV infekcije. Rezultati bi trebali razjasniti određene parametre patogeneze CMV infekcije mozga u razvoju te će iste biti moguće koristiti za daljnja ciljana istraživanja kod ljudi, te omogućiti nove pristupe u prevenciji i terapiji CMV infekcije.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	U istraživanju će se koristiti laboratorijski miševi. Približan broj miševa koji se planiraju koristiti u istraživanju tijekom navedenog razdoblja trajanja istraživanja je 1.500.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Novorođeni miševi bit će inficirani intraperitonealno mišjim citomegalovirusom 6-48 sati po okotu. Miševi će ostati s majkama i u određenom periodu po infekciji eutanazirani, a njihovi organi/tkiva/stanice bit će analizirani. Pojednim grupama životinja će se dodatno depletirati pojedine subpopulacije imunih stanica ili blokirati pojedini receptori intraperitonealnim injiciranjem odgovarajućih protutijela. U nekim pokusima miševi će dobivati per os vitamin D i/ili retinoičnu kiselinu. U pojedinim pokusima odrasle ženke će biti inficirane citomegalovirusom (intravenski, intraperitonealno ili supkutano) i potom će se pariti s neinficiranim mužjacima. Njihovo potomstvo bit će inficirano sa MCMV-om i u određenom periodu po infekciji eutanazirano, a njihovi organi/tkiva/stanice će biti analizirani. Moguća je prolazna blaga nelagoda neposredno nakon injekcije, te će		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	se životinje pratiti nakon injiciranja. Očekivana razina težine postupka je blaga.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Životinje će se koristiti s obzirom da ne postoji alternativna metoda za istraživanje MCMV-a i HCMV-a (infekcije i kompleksnih interakcija komponenti imunološkog sustava te neurorazvoja), koja bi bila zasnovana na modelu staničnih kultura, a posebno za istraživanje neuropatogeneze CMV infekcije. Osim toga, citomegalovirusi su strogo specifični za vrstu te ne postoje druge vrste podložne MCMV-u na kojima bi se moglo provoditi predloženo istraživanje.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	U pojedinim grupama životinja uključenim u istraživanje koristit će se najmanji mogući broj životinja koji omogućava dobivanje statistički relevantnih podataka.
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.	Citomegalovirusi su specifični za vrstu, a infekcija miševa MCMV-om je najčešće korišteni model za izučavanje HCMV infekcije, s obzirom na veliku sličnost MCMV-a i HCMV-a u imunobiologiji i patogenezi. Stoga u našem istraživanju možemo koristiti samo predloženi mišji model, odnosno koristit ćemo model infekcije novookočenih miševa MCMV-om, s obzirom da stupanj razvoja živčanog, kao i imunološkog sustava novookočenih miševa odgovara razvoju ljudskog fetusa krajem drugog trimestra trudnoće. Ovaj model omogućuje nam istraživanje složenih interakcija virusa s komponentama imunološkog sustava te organizma kao cjeline, kao i neurorazvojnih procesa. U planiranom istraživanju očekivana razina težine postupka je blaga. Životinje će po injiciranju biti praćene na znakove nelagode ili stresa koji su jači od blagih bez brzog oporavka (što nije očekivano u planiranom istraživanju), te će u slučaju istih životinje biti usmrćene na human način. Općenito, očekuje se da će životinje osjetiti samo BLAGU nelagodu te će biti usmrćene ako problemi sa zdravljem ili dobiti prerastu tu razinu. Novookočeni miševi biti će smješteni u leglima s majkama u individualno ventiliranim kavezima (IVC sustavima). Na kraju pokusa životinje će biti eutanazirane na human način.