

**OBRAZAC 3**

|                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |           |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----|
| <b>Naslov projekta</b>                                                                             | <b>In vivo dio pokusa u sklopu projekta IP-2014-09-9730</b><br>("Tau protein hyperphosphorylation, aggregation and trans-synaptic transfer in Alzheimer's disease: cerebrospinal fluid analysis and assessment of potential neuroprotective compounds")                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |           |    |
| <b>Trajanje projekta</b>                                                                           | 4 godine (2015-2019)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |           |    |
| <b>Ključne riječi (najviše do 5)</b>                                                               | Štakorski model Alzheimerove bolesti, tau proteini, flavonoidi, oksidacijski stres, transsinaptički prijenos proteina                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |           |    |
|                                                                                                    | Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |           |    |
|                                                                                                    | Temeljno istraživanje                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <u>da</u> | ne |
|                                                                                                    | Translacijska i primijenjena istraživanja                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <u>da</u> | 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). | <p>Za Alzheimerovu bolest (AB) ne postoji uzročno liječenje jer su brojni dosadašnji pokušaji intervencije temeljeni na amiloidnoj kaskadnoj hipotezi bili neuspješni. Usporedno s napretkom razumijevanja uloge tau proteina u patogenezi AB, metabolizam tau proteina je postao i važan terapijski cilj. Naime, smatra se da je u AB ravnoteža između kinaza i fosfataza tau proteina narušena, što dovodi do njegove hiperfosforilacije. Posljedično se povećava i frakcija tau proteina nevezanih za mikrotubule, pa se hiperfosforilirani tau monomeri vežu jedan za drugoga proizvodeći oligomere. Spajanje tau oligomera dovodi do oblikovanja sparenih uzvojitih filamenta, od kojih se sastoje sve neurofibrilarne promjene za koje je dokumentirano da predstavljaju najraniji neuropatološki događaj (tzv. "pre-tangle" stadij) od ključnog značaja za patogenezu AB. U sklopu <i>in vivo</i> istraživanja jedan od glavnih ciljeva projekta biti će biokemijsko i imunocitokemijsko dokazivanje transsinaptičkog širenja tau proteina u sklopu neurofibrilarne degeneracije (najkarakterističnija patološka promjena za Alzheimerovu bolest).</p> <p>Aktivnost na projektu A2.1 „Injekcija tau oligomera u entorinalni korteks mladih i starih miševa“</p> <p>Aktivnost na projektu A6.1 „Ispitivanje transsinaptičkog</p> |           |    |

Ministarstvo poljoprivrede  
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

|                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                          | <p>širenje neurofibrilarne degeneracije bojanjem prema Bielschowskom i imunocitokemijom"</p> <p><i>Aktivnost na projektu A10.1 „Ispitivanje promjena u izraženosti TAU mRNA nakon injekcije tau oligomera u entorinalnu moždanu koru miševa"</i></p> <p><i>Aktivnost na projektu A14.1 „Utjecaj neuroprotektivnih spojeva na širenje neurofibrilarne degeneracije"</i></p> <p>Istraživanja će se provesti u svrhu znanstvenog projekta ali i za izradu doktorske disertacije.</p>                                                                                                                           |
| Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta ( <i>kako znanost može biti unaprjeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta</i> ).                                            | Bolje razumijevanje patoloških procesa temelj je budućih pretkliničkih i kliničkih pokusa za iznalaženje terapijskih postupaka i potencijalnih neuroprotektivnih spojeva radi sprječavanja neurofibrilarne degeneracije.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.                                                                                                                                                                     | Lewis štakor, 300 životinja                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?                                                                      | Očekuje se promjena u ponašanju životinja; promjene karakteristične za Alzheimerovu bolest. Nakon indukcije Alzheimerove bolesti životinje će biti žrtvovane za uzimanje organa za analizu oksidacijskog stresa, genotoksičnih, imunskih i histoloških promjena.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Primjena načela 3R</b>                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>1. Zamjena</b><br>Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.                                                                                         | Mehanizme proučavanja patoloških promjena u sklopu neurofibrilarne degeneracije i transsinaptičkog širenja patoloških oblika tau proteina ne može se proučavati na ljudima. In vitro istraživanja ovih procesa nedostatna su za njihovo razumijevanje.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>2. Smanjenje</b><br>Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.                                                                                                                                         | U pokusu će se koristiti najmanji mogući broj životinja s obzirom na svrhu istraživanja.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>3. Poboljšanje</b><br>Objasniti izbor vrsta i zašto su korišteni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve.<br>Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje. | <p>Životinje u pokusu će se držati u uobičajenim uvjetima za održavanje laboratorijskih životinja (hranjenje, njega) te s obogaćenim okolišom za bolje i kvalitetnije korištenje prostora te materijalima za grizenje, trganje i manipuliranje.</p> <p>Životinje će biti usmrćivane tijekom pokusa u skladu s propisima o dobrobiti životinja (anestezija intraperitonealnom primjenom kombinacije Narketana® Vetoquinol S.A., BP 189 Lure Cedex, Francuska (djelatna tvar Ketamin) i Xylapana® Vetoquinol Biowet Sp., Gorzow, R. Poljska (djelatna tvar Ksilazin) a potom će se životinje iskrvariti).</p> |