

Naslov projekta	Morfološka i neurofiziološka karakterizacija auditornog neuroelektroničkog sučelja		
Trajanje projekta	3 godine		
Ključne riječi (najviše do 5)	Neuroni spiralnog ganglija, kohlearni nukleus, štakor, zamorac, kohlearni implant		
	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 dohrobiti 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)	Medicinska bionika je rapidno rastuće područje tehnologije koja može učinkovito povezivati elektroničke sustave poput računalnog čipa sa živčanim sustavima. Najuspješniji primjeri takvih sučelja - brain-machine interfaces - su umjetne pužnice (cochlear implants - CI) i implantati auditornog moždanog debla (auditory brainstem implants - ABI) koji izravnom električnom stimulacijom auditornog živca i kohlearnih jezgara omogućuju djelomičnu čujnost u potpuno gluhih osoba. Dosadašnja tehnologija proizvodnje CI-ja i ABI-ja pati od fundamentalnog ograničenja koje se očituje u nefokusiranosti električne stimulacije. Mali broj elektroda dovodi do vrlo skromnih performansi u usporedbi s karakteristikama normalno čujućeg sustava, te velikih razlika u učinkovitosti korištenja među pacijentima. Ovo temeljno ograničenje se namjerava „napasti“ pomoću inovativnog auditornog neuro-elektronskog sučelja temeljenog na poluvodičkim (CMOS) supstratima s igličastim strukturama, te aktivnom CMOS čipu s 16384 elektroda koji su odnedavno dostupni kao tehnološki prototip. U sklopu projekata StripMed i EvoNa potvrđen je uspješan <i>in vitro</i> uzgoj auditornih neurona na čipovima, te je napravljena inicijalna morfološka karakterizacija neurona, koja je potrebna za uspostavu optimalnih protokola elektrofiziološke karakterizacije. U nastavku istraživanja, <i>in vitro</i> uzgojeni neuroni, će se elektrofiziološki karakterizirati koristeći standardnu „patch-clamp“ tehniku te novu tehniku električne stimulacije pomoću mikro-elektroda na čipovima. Za uzgojene neurone odredit će se trajanje akcijskog potencijala, mirovinski membranski potencijal, napon praga i slične elektrofiziološke karakteristike kao što je opisano u radu Davis & Crozier (2015).		
Koje su potencijalne prednosti za koje se vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (čak i ako znanost može biti naprijedena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Prednost korištenja biokompatibilnih CMOS čipova je veliki broj elektroda, koje omogućuju izravnu električnu stimulaciju pojedinačnih neurona rezultirajući većom fokusiranošću električne stimulacije i potencijalno većom rezolucijom osjeta sluha. Takav sustav tvorio bi dobar temelj za razvoj bioničkih auditornih uređaja nove generacije koji bi znatno povećali kvalitetu sluha korisnika i općenito njihovog života i funkcioniranja u društvu.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti	Štakor (<i>Rattus norvegicus</i>) - 200 jedinki godišnje Zamorac (<i>Cavia porcellus</i>) - 40 jedinki godišnje Miš (<i>Mus musculus</i>) - 100 jedinki godišnje		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	U ovom projektu negativni učinci na životinje svedeni su na minimum, korištenjem odgovarajućeg sredstva za anesteziju te provođenjem pokusa od strane vještog i osposobljenog osoblja. Način usmrćivanja životinje je bezbolan – anestezija sa ketaminom/ksilazinom nakon čega slijedi dekapitacija.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	U nedostatku alternativne metode (provjereno konzultacijom ECVAM baze dana 30.1.2017.) neizbježno je korištenje životinjskih modela za izolaciju vijabilnih živčanih stanica.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Eksperimentalni dizajn je uspostavljen na način, da će se maksimizirati broj eksperimentalnih uvjeta (<i>condition</i>) po eksperimentu putem razrjeđivanja i raspoređivanja identičnih staničnih kultura na barem 4 eksperimentalna uvjeta.
3. Pобољшanje 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.	U istraživanju koristit će se zamorac (<i>Cavia porcellus</i>, Dunkin Hartley soj) koji se smatra standardnim animainim modelom za auditorna istraživanja zbog svojih dobrih svojstava (robustni i relativno veliki auditorni neuroni, relativna lakoća disekcije kohleje i auditorna svojstva slušanja (frekvencijski opseg, intenzitet, slična čovjeku) (Terril i Clemons, 1998; Harkness et. al., 2002). Miš (<i>Mus musculus</i>) u istraživanju će se koristiti zbog pužnice slično građene kao u čovjeka, te zbog kratke gestacijske dobe (3 tjedna), lake disekcije pužnice te velikih auditornih neurona (Avraham, 2003; Vieira et. al., 2007; Ohlemiller et. al., 2016). Kako bi se provjerile inicijalne hipoteze o izvedivosti uzgoja neurona na CMOS supstratima, u prvim fazama istraživanja koristit će se Sprague Dawley štakori (<i>Rattus norvegicus</i>) u dobi od P5-P7 (okot štakora) s obzirom da se tada očekuju optimalni neuro-razvojni procesi in-vitro uzgoja neurona i maksimalizacija broja takvih neurona (Mattotti et. al., 2015). Postupak intrakohlearne ekstrakcije auditornih neurona spiralnog ganglija (SGN) je opisan u (Szabó, et. al., 2003), (Bostrom et al., 2010), (Vieira et. al., 2007) i (Mattotti et. al., 2015) i temelji se na 30-godišnjoj praksi in-vitro uzgoja stanica u razvojnoj neurobiologiji. Konzultirana je ECVAM baza (http://ecvam-dhalm.jrc.ec.europa.eu/), dana 30. siječnja 2017., s upitom „Culture methods / Primary cell culture method“ u izbornicima metoda i protokola. Prema AVMA smjernicama iz 2013. godine anestetik ketamin u kombinaciji sa agonistima α-adrenergičnih receptora kao što je ksilazin, najčešće je korišten za anesteziju malih glodavaca kao što miševi, štakori i zamorci. Eutanazija životinja vrši se dekapitacijom. Kod okota štakora koristi se hipotermija koja je najčešća metoda anestezije kod neonatalnih glodavaca. Dosadašnja istraživanja pokazala su da je hipotermija sigurna i djelotvorna metoda anestezije kod neonatalnih glodavaca do 7 dana starosti – P7 (Cunningham i McKay, 1993; Danneman i Myodreil, 1997; Phier i Terry, 1986).