

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Molekularni aspekti patogenih procesa u AHCY deficijenciji		
Trajanje projekta	prosinac 2018 – studeni 2022		
Ključne riječi (najviše do 5)	AHCY, mutacija, metabolički poremećaj		
	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).	Nedostatak S-adenozilhomocistein hidrolaze (AHCY) je poremećaj uzrokovan mutacijama u genu AHCY čime je smanjena aktivnost ovog proteina. Nedostatak AHCY uzrokuje brojne nepovoljne promjene biokemijskih pokazatelja i kliničkih simptoma vezanih uz jetrene, mišićne i neurorazvojne poremećaje. Stoga je cilj stvoriti i okarakterizirati in vivo model bolesti kojim bi se rasvijetlili molekularni mehanizmi nedostatka funkcije AHCY uslijed mutacija koje su nađene u pacijentima te potencijalne biomarkere za lakšu i točniju dijagnostiku.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Stvaranjem miša s genetskom mutacijom u određenom genu, kakva je nađena u ljudi oboljelih od AHCY nedostatka, otvara se mogućnost validacije predloženog modela za daljnja istraživanja ove rijetke bolesti u ljudi. Naime, pronalaskom točnog mehanizma nastanka te utvrđenjem molekularnih biljega bolesti moguća je pravovremena i točna dijagnostika bolesti. Obzirom brojni poremećaji ostanu nedijagnosticirani isto bi moglo unaprijediti dijagnostiku bolesti u ljudi, te omogućiti terapiju bolesti što nije moguće bez valjanog in vivo modela.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	NOD/Lt miš NOD/Lt.Ahcy miš C57BL/6 C57BL/6 s modifikacijom Y143C i Y328D 192 životinje ukupno		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Postupci su blage kategorizacije. Po završetku istraživanja životinje ćemo usmrtniti cervikalnom displokacijom.		
Primjena načela 3R			

1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	U dijelu planiranih pokusa in vivo mišji model je nezamjenjiv. Trenutno ne postoje metode koje mogu potpuno zamijeniti predložene in vivo metode, ili postići dostizanje projektnog cilja. Za predloženi in vivo model ne postoji zadovoljavajući model in vitro. Naime, na staničnim modelima su provedena brojna istraživanja (kako na staničnim linijama tako i na stanicama uzgojenim od pacijenata oboljelih od ove bolesti).
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Pokusi na životinjama će biti provedeni na minimalnom broju jedinki kako bi se okarakterizirao model za nasljednu bolest nedostatka AHCY. Korištenjem metoda koje su znanstveno validirane i usporedive sto će omogućiti dobivanje podataka usporedivih sa onima ranije dobivenima na staničnim modelima, na ljudima te na zdravim jedinkama istog soja. Pokusi su pažljivo planirani te se temelje na dugotrajnim istraživanjima što omogućava ciljano biranje točki u kojima će se provesti validacija modela, sa uzimanjem ciljnih tkiva i provođenjem više od jednog postupka na istoj jedinki kako bi se smanjio broj životinja u pokusu. Također smo korištenjem statističkih alata približno odredili broj potrebnih životinja koji će se koristiti u pokusima a da bi se dobili rezultati koje je moguće znanstveno objasniti i validirati.
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.	Mišji model je najviše ispitivani model u predloženim istraživanjima, te smo se odlučili za korištenje istog kako bi u kratkom roku validirali model nedostatka AHCY enzima i uveli ga u istraživanje, temeljem mutacija otkrivenih u ljudi. Mutacije su genetskim manipulacijama (komercijalne tvrtke) napravljene u mišu kao modelu kojim je lako manipulirati te se zna kompletan genetski slijed pa tako i u željenom genu. Naime, ukoliko predloženi model jasno i s velikom vjerojatnošću preslikava bolest kod ljudi s navedenim genetskim mutacijama, moći ćemo dalje istraživati bolest, te eventualno odrediti molekularne biljege bolesti kako bi olakšali dijagnostiku bolesti; ali u konačnici i omogućili razumijevanje nastanka bolesti i time otkrili potencijalna ciljna mjesta terapijskih postupaka i supstancija koje bi se koristile u liječenju. Životinjama će rukovati te pokus provoditi osoblje obučeno za rad sa životinjama kako bi se osigurala

	dorobit i smanjio stres jedinki u pokusu. Životinjama će u nastambu biti dodan materijal za građenje gnijezda kako bi se osiguralo vrsno specifično ponašanje odnosno stres smanjio na najmanju moguću mjeru uz osiguranje dobrobiti. U slučaju potrebe koristiti će se odgovarajući analgetski preparati (lokalno kod vađenja krvi iz repne vene).
--	--

