

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Utjecaj virusom induciranih čimbenika na stanice urodne imunosti u mozgu te na parametre postnatalnog razvoja malog mozga - NADOPUNA		
Trajanje projekta	*01.08.2019.-31.7.2024. *odnosno od datuma izdavanja odobrenja ukoliko odobrenje bude izdano poslije 01.08.2019.		
Ključne riječi (najviše do 5)	Citomegalovirus, razvoj malog mozga, imuni odgovor, stanice NK, mikroglija		
	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, pri čemu će se koristiti mišji citomegalovirus (MCMV) kao model za istraživanje utjecaja virusne infekcije kao i virusom induciranih čimbenika na aktivaciju mikroglije prema proupalnom fenotipu kao i na promjene u postnatalnom razvoju malog mozga. Naši preliminarni rezultati pokazali su da nakon infekcije novoočkočenih miševa MCMV-om, stanice NK infiltriraju u moždani parenhim. Od posebnog je značaja rezultat koji pokazuje da uklanjanje stanica NK ili neutralizacija proupalnog citokina interferona gama kod inficiranih miševa dovodi do korekcije parametara postnatalnog razvoja malog mozga. Stoga su ciljevi ovog istraživanja: odrediti čimbenike odgovorne za privlačenje stanica NK u mozak te odrediti možemo li njihovom blokadom spriječiti promjene u razvoju malog mozga uzrokovane prirodnom infekcijom MCMV-om. Isto tako naš je cilj odrediti na koje stanice u mozgu djeluje interferon gama (neurone, astrocite, mikrogliju) i uzrokuje promjene u parametrima postnatalnog razvoja malog mozga te mogu li citokini s periferije uzrokovati promjene u razvoju malog mozga ili je potrebna virusna replikacija u mozgu. S obzirom na promjene u razvoju malog mozga nakon infekcije novoočkočenih miševa MCMV-om cilj istraživanja je odrediti njihov dugoročni učinak na ravnotežu i motornu koordinaciju te potencijalni terapijski učinak uklanjanja stanica NK ili neutralizacije IFNγ. Mjerenje motorne koordinacije i ravnoteže provest će se na Rota-rodu tj. rotirajućoj šipki. S obzirom da mikroglija zadržava proupalni fenotip tijekom čitavog životnog vijeka miševa, cilj je istražiti kako infekcija djeluje na mikrogliju te koja je funkcija mikroglije tijekom infekcije MCMV-om.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog	Rezultati ovog istraživanja trebali bi razjasniti mehanizme patogeneze postnatalnog razvoja malog mozga nakon infekcije novoočkočenih		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

projekta (<i>kako znanost može biti unaprjeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta</i>).	miševa MCMV-om te doprinijeti boljem razumijevanju patogeneze kongenitalne HCMV infekcije. Rezultati bi trebali razjasniti određene parametre patogeneze CMV infekcije mozga 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. Predviđeni broj miševa koji se planiraju koristiti u istraživanju tijekom navedenog razdoblja trajanja istraživanja je 1930.
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Novookočeni miševi bit će inficirani intraperitonealno mišjim citomegalovirusom 6-24 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 neutralizirati proupalni citokini intraperitonealnim injiciranjem odgovarajućih protutijela. Moguća je prolazna blaga nelagoda neposredno nakon injekcije, te će 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 patogeneze postnatalnog razvoja malog mozga), koja bi bila zasnovana na modelu staničnih kultura. 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. Ovaj model omogućuje nam istraživanje složenih interakcija virusa s komponentama imunološkog sustava te organizma kao cjeline, kao i neurorazvojnih procesa.
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.	U planiranom istraživanju očekivana razina težine postupaka je blaga. Životinje će po injiciranju biti praćene na znakove nelagode ili stresa koji su jači od predviđenih sukladno obrascu u točki 4.11.5, te u slučaju potrebe biti usmrćene na human način. Tijekom pokusa životinje će biti smještene u grupama u kavezima smještenim u IVC sustave sa obogaćenim okolišem. Novookočeni miševi bit će smješteni u leglima sa majkama. Na kraju pokusa životinje će biti eutanazirane na human način.