

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2016/31



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z7-5516
Naslov projekta	Vpliv spolnih hormonov na spolne razlike pri motnjah avtističnega spektra na modelu miši
Vodja projekta	24348 Neža Grgurevič
Tip projekta	Zt Podoktorski projekt - temeljni
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	08.2013 - 07.2015
Nosilna raziskovalna organizacija	406 Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.09 Psihatrija
Družbeno-ekonomski cilj	
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3 Medicinske vede 3.02 Klinična medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Avtizem zajema skupino klinično zelo heterogenih motenj, ki jih strokovno imenujemo motnje avtističnega spektra (MAS). Skupno tem motnjam so težave na treh različnih področjih: socialni primanjkljaj, otežen govor in sporazumevanje ter stereotipno ponavljajoče obnašanje. Avtizem je ena najbolj spolno različnih psihiatričnih motenj, saj se pojavlja kar štirikrat pogosteje pri moškemu spolu kot pri ženskemu spolu. Ena od hipotez, ki poskušajo razložiti

nastanek spolnih razlik pri MAS predlaga, da gre pri tej nevrološki motnji za hipermaskulinizacijo oziroma za prekomerno izražanje moških značilnosti v možganih in obnašanju. Hipermaskulinizacija bi lahko bila posledica prekomerne izpostavljenosti testosteronu med razvojem. Da bi testirali to hipotezo, smo v naši raziskavi uporabili miši, ki so prenatalno izpostavljene valproični kislini (VK). VK je zdravilo, ki je pri ljudeh največkrat omenjeno v povezavi z nastankom avtizma, pri glodavcih pa prav tako povzroča simptome podobne avtizmu.

Prvi cilj projekta je bil ugotoviti ali T v času fetalnega razvoja vpliva na spolne razlike v pojavljanju in intenzivnosti avtističnih motenj. Drugi cilj pa je bil ugotoviti ali spolni hormoni v odraslem obdobju vplivajo na izražanje avtističnih motenj in ali lahko estrogeni hormoni zaščitijo živčevje pred nastankom avtističnih motenj.

Gravidne samice smo razdelili na štiri skupine in jim pod kožo injicirali VK al/in testosteron propionat (TP) in /ali nosilce v obliki fiziološke raztopine ali koruznega olja z dodanim etanolom:

1. skupina z dodano VK in TP; 600 mg/kg VK na dan embrionalni dan 13 (E13) in 100 µg TP na žival na dan E14 in E15,
2. skupina z dodano VK; 600 mg/kg VK na dan E13 in mešanica koruznega olja in etanola na dan E14 in E15,
3. skupina z dodanim TP; fiziološka raztopina na dan E13 in 100 µg TP na žival na dan E14 in E15,
4. kontrolna skupina z dodanimi nosilci; fiziološka raztopina na dan E13 in mešanica koruznega olja in etanola na dan E14 in E15.

Vse skupaj smo v projektu načrtovali testirati 8 skupin miši, obeh spolov.

Skupina miši s prisotnimi spolnimi žlezami, pred rojstvom izpostavljene:

1. VK in TP
2. VK in olje
3. fiziološka raztopina in TP
4. fiziološka raztopina in olje

Miši z odstranjenimi spolnimi žlezami in po dodanem estradiol benzoatu:

1. VK in TP
2. VK in olje
3. fiziološka raztopina in TP
4. fiziološka raztopina in olje

Za vsako žival so bili načrtovani naslednji testi obnašanja:

1. iskanje gnezda pri mladičih,
2. opazovanje samonegovanja,
3. test zakopavanja frnikol za ugotavljanje ponavljajočega obnašanja,
4. dvignjen labirint za ugotavljanje obnašanja podobnega tesnobi,
5. test odprtega polja za ugotavljanje obnašanja podobnega tesnobi,
6. vohalni test navajanja/odvajanja za ugotavljanje komunikacije,
7. socialne interakcije,
8. opazovanje samonegovanja.

Miši bodo žrtvovane in odvzeti bodo možgani in krvna plazma.

ANG

Autism is a neurodevelopmental behavioral disorder and is comprised of a clinically heterogeneous group of disorders, collectively termed "autism spectrum disorders" (ASD) that share common features of three behaviorally altered domains: social deficit, impaired language and communication, and stereotyped and repetitive behaviors (DSM 4th). ASD is in one of the most sexually dimorphic neuropsychiatric disorders with greater incidence in males than in females. The ratio of male to female diagnosis is approximately 4:1 but could reach as high as

11:1 for Asperger syndrome. One of the hypotheses suggests that autism behaviors are an extreme form of typical male behaviors and could be a result of hypermasculinization due to exposure prenatally to testosterone (T). To test this hypothesis mice model was used, treated prenatally with valproic acid (VPA) which is the drug most commonly associated with ASD in humans and have similarly effects on rodents as well.

The first aim of our proposal was to explore whether T during development (*in utero*) is responsible for sex differences in the prevalence and severity of ASD. The second aim of our proposal was to explore whether gonadal hormones modulate autistic phenotype in a way that estrogens could have a protective and/or pro-social function.

In our proposal, two hypotheses were planned to be tested:

if fetal T has a major organizational role in male susceptibility to ASD, female mice exposed to both VPA and T during development should behave similarly to VPA exposed males,

if estrogens have neuroprotective role and activate (through oxytocin or perhaps some other pathway) pro-social behaviors, gonadectomized VPA exposed males should display reduced autistic like behaviors after estradiol treatment in adult life.

Pregnant females were planned to be divided into four groups as follows:

valproic acid and testosterone propionate (TP) group; 600 mg/kg VPA on E13 and 100 µg TP per animal on E14 and E16;

valproic acid only group; 600mg/kg VPA on E13 and mixture of corn oil and ethanol on E14 and E16,

testosterone propionate only group; saline on E13 and 100 µg TP per animal on E14 and E16,

control group treated with vehicles; saline on E13 and mixture of corn oil and ethanol on E14 and E16.

Therefore, all together 8 groups of mice were planned to be tested:

1. Mice prenatally exposed to TP and VPA, and tested intact
2. Mice prenatally exposed to TP only and tested intact
3. Mice prenatally exposed to VPA only and tested intact
4. Mice prenatally exposed to vehicles and tested intact
5. Mice prenatally exposed to TP and VPA, gonadectomized and tested after estradiol treatment
6. Mice prenatally exposed to TP only, gonadectomized and tested after estradiol treatment
7. Mice prenatally exposed to VPA only, gonadectomized and tested after estradiol treatment
8. Mice prenatally exposed to vehicles, gonadectomized and tested after estradiol treatment

Mice will be sacrificed and blood plasma and brain will be collected.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

V prvem letu od 2013 do 2014 smo se med delom srečali s kar nekaj težavami. Težave smo reševali sprotno na podlagi opazovanih rezultatov in na podlagi najnovejših znanstvenih raziskav.

- Težave z umrljivostjo mladičev smo rešili z uporabo izkušenih samic, ki so imele že vsaj eno gnezdo in z zmanjšanjem dodane VK (iz 600 mg/kg na 500 mg/kg).
- Težave z nenormalno razvitim urogenitalnim traktom pri samicah so po vsej verjetnosti nastale zaradi prezgodnjega tretiranja s T. Tretiranje smo zato premaknili iz E14 in E16, na eno samo tretiranje na E17.
- Retencija urina se je nepričakovano pojavila po tretiranju samic z estrogenimi hormoni. Omenjen patofiziološki proces smo uspeli omejiti le do te mere, da smo zmanjšali obseg oziroma težavnost simptomov. Namesto estradiol benzoata, smo uporabili 17β-estradiol (E2), ki je v vodi veliko slabše topen. V literaturi je zelo malo podatkov o retenciji urina pri miših po dodajanju estrogenih hormonov. Pojav je opisan tudi pri ljudeh s Fowlerjevim sindromom, pri katerem so prisotni poleg retencije urina tudi policistični ovariji. Iz tega razloga smo predvidevali, da bi v naši raziskavi lahko prav kombinacija prenatalnega T in estradiola povzročila nastanek retencije urina.

Ker smo zaradi težav v prvem letu izgubili veliko časa, smo v drugem letu lahko testirali le prvo hipotezo. Za drugo hipotezo je bilo premalo časa in sredstev, saj je bil projekt odobren v višini polovičnega financiranja in iz tega razloga smo nastavili še en, veliko bolj enostaven, poskus v katerem smo želeli proučiti kako vpliva prenatalna izpostavitve VK na starševsko obnašanje. Starševsko vedenje je bilo izbrano iz dveh razlogov. Prvič, to vedenje je socialno vedenje in bi bilo lahko iz tega razloga pri MAS spremenjeno in drugič, starševsko vedenje v povezavi z MAS do danes še ni bilo opisano v znanstvenih publikacijah.

Z upoštevanjem vseh sprememb, smo do izteka projekta v 2015 končali vsa opazovanja na 108 živalih, od katerih smo 5 živali izločili iz obdelave podatkov, saj smo ob žrtvovanju ugotovili, da živali niso imele prisotnih implantov pod kožo. Ti so verjetno po operaciji izpadli ven.

Do danes smo opazovanja končali na živalih, ki so bile razdeljene v dve skupini:

Prva skupina operiranih miši obeh spolov, pri kateri so bile samice opazovane po ovariektomiji in po vstavitvi podkožnih implantov napolnjenih z E2, samci pa so bili opazovani po navidezni (sham) operaciji in z vstavljenimi praznimi implantami. Vse živali so bile opazovane v testu dvignjenega labirinta, v testu samonegovanja, odprtega polja, socialne izbire in v treh zaporednih testih agresivnosti. Opazovali smo:

1. 9 samic in 7 samcev, prenatalno izpostavljenih fiziološki raztopini in olju
2. 6 samic in 7 samcev, prenatalno izpostavljenih VK in olju
3. 9 samic in 9 samcev, prenatalno izpostavljenih fiziološki raztopini in TP
4. 6 samic in 9 samcev, prenatalno izpostavljenih VK in TP

Druga skupina intaktnih miši obeh spolov. Vse živali so bile opazovane v testu dvignjenega labirinta, v testu odprtega polja, socialne izbire in v dveh zaporednih testih starševskega obnašanja. Opazovali smo:

1. 10 samic in 8 samcev, prenatalno izpostavljenih fiziološki raztopini
2. 10 samic in 13 samcev, prenatalno izpostavljenih VK

Vse navedene živali smo žrtvovali in odvzeli krvno plazmo ter možgane. Z namenom raziskati patofiziološki proces retencije urina, smo poleg tkiv v prvotnem projektu, zbrali tudi jajčnike, maternico in mehur, ki so bili fiksirani in zaliti v parafinske bloke. Trenutno na možganih poteka še imunohistokemija za naslednje beljakovine; oksitocinski receptor, estrogenski receptor alfa in kalbindin. V tem letu imamo v načrtu končati imunohistokemijo možganov in začeti pripravljati znanstveni članek. Predvidevamo, da imamo dovolj rezultatov, da objavimo dva znanstvena članka.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

V prvem letu od 2013 do 2014 smo se med delom srečali s kar nekaj težavami. Ker smo zaradi težav v prvem letu izgubili veliko časa, smo v drugem letu lahko testirali le prvo hipotezo. Za drugo hipotezo je bilo premalo časa in sredstev, ker je bil projekt odobren v le polovičnem financiranju. Kljub vsemu smo namesto druge skupine uspeli opraviti teste na dodatni skupini živali, pri kateri smo proučili vpliv valproične kisline na starševsko obnašanje. Ta poskus pa je bil veliko manj kompleksen in obsežen ter izvedljiv v tako kratkem času. Vse navedene živali smo žrtvovali in odvzeli krvno plazmo ter možgane, tako kot je bilo načrtovano. Z namenom raziskati patofiziološki proces retencije urina, smo poleg tkiv v prvotnem projektu, zbrali tudi jajčnike, maternico in mehur, ki so bili fiksirani in zaliti v parafinske bloke.

Zaradi omenjenih težav nismo uspeli dokončati vseh raziskav na tkivih. Ker je bila odobrena le polovica prvotno predvidenih finančnih sredstev, smo vse možgane pripravili za imunohistokemijo in iz prvotnega načrta izločili analizo RNK, ki predstavlja finančno veliko večji strošek. Trenutno na možganih še poteka imunohistokemija. V tem letu imamo v načrtu končati imunohistokemijo možganov, statistično obdelati podatke in začeti pripravljati znanstveni članek. Predvidevamo, da imamo dovolj rezultatov, da objavimo dva znanstvena članka.

V prvotnem projektu smo predvideli 130 -160 živali. V prvem letu smo opravili raziskave na 30 živalih. V tem času smo tudi reševali omenjene težave. Podatki o obnašanju po vsej verjetnosti zaradi nepričakovanih patomorfoloških sprememb na živalih ne bodo uporabni v celoti. Kljub vsemu so možgani teh živali shranjeni in bodo uporabni v nadaljnjih raziskavah. V drugem letu

smo končali vsa opazovanja na 108 živalih, od katerih smo 5 živali izločili iz obdelave podatkov. Ti podatki so v celoti uporabni, prav tako tudi tkiva teh živali. Ocenjujemo, da smo projekt vsebinsko uspeli realizirati le delno, saj se je zaradi težav pri delu in zmanjšane inanciranja potek dela zelo spremenil. Po obsegu dela, smo projekt realizirali skoraj v celoti in relativno uspešno glede na pričakovanja v prvem letu.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

V prvem letu smo imeli težave s številom mladičev in prezgodnjo smrtnostjo. Izkazalo se je, da je potrebno uporabljati le izkušene samice, ki so že imele gnezda. Pri naslednji skupini živali smo uporabljali le izkušene samice, poleg tega pa smo na podlagi najnovejših člankov zmanjšali količino valproične kisline na 500 mg/kg. Ta količina naj bi prav tako kot prvotna količina 600 mg/kg, povzročila simptome podobne avtizmu, hkrati pa ima manjši učinek na umrljivost. Izkušene samice so imele primerno velika gnezda. V prvem letu smo pri testnih živalih ob žrtvovanju opazili patološke spremembe na urogenitalnih organih. Ugotovili smo, da estradiol povzroča zastajanje urina, testosteron pa s sluzjo prenapolnjeno maternico (mukometro) in nerazvito nožnico. Zaradi preobsežnih patoanatomskih sprememb smo se odločili, da bomo protokol prenatalnega dodajanja testosteron propionata (TP) spremenili in sicer, brejim samicam bomo dodali TP le E17, ko je večji del razvoja urogenitalnega trakta že končan. Ker ni popolnoma jasno ali je do retencije urina prišlo tudi zaradi estrogenih hormonov, smo spremenili tudi protokol dodajanja estradiol benzoata. Namesto estradiol benzoata smo v vsadke dali 17 β -estradiol (E2), ki je v vodi veliko slabše topen in doseže manjše koncentracije v krvi. V prvem letu smo spremenili tudi vrsto testov obnašanja, saj se je pri nekaterih testih izkazalo, da ne bodo prinesli rezultatov, na primer test iskanja gnezda in zakopavanja fernikol ni pokazal nobenih razlik. Namesto teh testov smo dodali test agresivnega obnašanja in namesto vohalnih testov smo dodali test socialnega prepoznavanja, ki je eden najbolj primernih testov za proučevanje simptomov podobnih avtizmu.

Zaradi zmanjšanja finančnih sredstev na polovico, smo morali nekatere metode raziskovanja opustiti. Iz tega razloga smo analizo RNK izločili iz prvotnega načrta in vse možgane pripravili za imunohistokemijo.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	0	Vir: vpis v obrazec
	Naslov	SLO	Spolne razlike v možganih - vpliv spolnih hormonov in spolnih kromosomov
		ANG	Sex differences in the brain – an interplay between sex steroid hormones and sex chromosomes
	Opis	SLO	Pregledni članek o spolni diferenciaciji možganov in o vplivu spolnih hormonov ter spolnih kromosomov na omenjen proces.
		ANG	Review article about sexual differentiation of the brain and influence of sex steroids and sex chromosomes on this process.
	Objavljeno v	Članek poslan v revijo Clinical sciences (Faktor vpliva 5,6)	
Tipologija	1.02 Pregledni znanstveni članek		
2.	COBISS ID	1	Vir: vpis v obrazec
	Naslov	SLO	Haploinsuficienca steroidogenega faktorja 1 in njen vpliv na materinsko obnašanje

	ANG	Haploinsufficiency for Steroidogenic factor 1 affects maternal behavior in mice
Opis	SLO	In short scientific report maternal behavior of mice with haploinsufficiency for steroidogenic factor 1 is described. Behavioral tests revealed that SF-1 KO heterozygous females have impaired maternal behavior. In comparison to WT females, SF-1 KO heterozygous females retrieved significantly less pups into the nests, latency to retrieve and crouch over the pups was longer and their nests were lower quality.
	ANG	V kratkem znanstvenem prispevku je opisano materinsko obnašanje miši s haploinsuficienco steroidogenega faktorja 1 (SF-1). Nepopolno delovanje SF-1 povzroči motnje pri izražanju materinskega obnašanja. V primerjavi z divjim tipom miši so samice, z le delno funkcionalnim SF-1, prinesle manjše število mladičev v gnezdo, potrebovale dalj časa, da so začele prinašati mladiče v gnezdo, potrebovale dalj časa, da so jih začele negovati pod telesom ter gradile slabša gnezda.
Objavljeno v	Članek poslan v revijo behavioral neuroscience (Faktor vpliva 2,7)	
Tipologija	1.03 Kratki znanstveni prispevek	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	4063098	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Vpliv estrogenih hormonov iz kravjega mleka na raven teh hormonov v krvi pri miših	
	ANG	Influence of estrogen hormones from bovine milk on the levels of these hormones in the blood of mice	
Opis	SLO	Cilj te raziskave je bil ugotoviti ali uživanje mleka z znano količino estrogenov vpliva na nivo steroidnih hormonov v krvi in na nekatere reprodukcijske parametre pri miših. Rezultati so pokazali, da mleko visoko brejih krav, s koncentracijo 65,2 pg/mL estrona in 92,7 pg/mL 17 β -estradiola, ni vplivalo na nivo estrogenih hormonov niti testosterona v plazmi in prav tako ni povečala teže maternic preiskovanih živali.	
	ANG	The aim of this research was to evaluate whether the exposure to known doses of estrogens through consumption of cows' milk could affect blood hormone levels in mice and influence some reproductive parameters. Results indicate that milk from highly pregnant cow which contained estrone in concentration of 65,2 pg/mL and 17 β -estradiol in concentration of 92,7 pg/mL did not affect estrogen plasma levels neither changed uteri weight nor plasma testosterone levels in experimental animals.	
Šifra	D.10 Pedagoško delo		
Objavljeno v	[J. Koračin]; 2015; 34 f.; Avtorji / Authors: Koračin Jasmina		
Tipologija	2.12 Končno poročilo o rezultatih raziskav		

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

V okviru tega projekta načrtujemo dva znanstvena članka. Trenutno pa imamo v recenziji tri znanstvene članke, ki so nastali v času izvajanja projekta, so posredno povezani s tem projektom.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Avtizem je kompleksna nevrološka razvojna motnja, ki se pojavi v zgodnjem otroštvu. Naša raziskava se je osredotočila predvsem na proces spolne diferenciacije in na spolne razlike v avtizmu. V tem kontekstu bo prinesla nove odgovore o tem kako spolni hormoni lahko vplivajo na sam nastanek simptomov, ki se pojavljajo pri avtizmu. Miši so ena najbolj pogosto uporabljenih živali za namene raziskovanja. Ker je pri tej vrsti živali možna genetska manipulacija, obstaja za proučevanje avtizma veliko število genetsko spremenjenih modelov miši. Naša raziskava bi v tem primeru predstavljala osnovo na podlagi katere bi lahko vključili v proučevanje spolnih razlik tudi ostale modele miši za avtizem. Raziskave bi lahko v prihodnosti razširili tudi na modele miši, ki jih uporabljamo za proučevanje hormonsko neodvisne spolne diferenciacije. Te raziskave bi bile še posebno zanimive, saj predvidevajo, da spolne razlike pri avtizmu nastanejo tudi zaradi spolno različnih genetskih dejavnikov, X in Y kromosoma. S poglobljenim znanjem o spolnih razlikah pri avtizmu bi lahko skupaj z drugimi modeli za avtizem proučevali nove tarčne molekule za razvoj novih zdravil.

ANG

Autism is devastating, incurable disorder which starts very early in the childhood. Our study is focused specially on process of sexual differentiation in the context of autism causing factors and will provide new answers to questions regarding etiology of autism in particular from the perspective of sex differences. Since mice are widely used in different studies and numerous genetic models are available for ASD, our results could provide a base for further studies of sex differences in ASD. In the future sex differences could be explored with mice models for hormonal independent sexual differentiation. This would be particularly interesting since influence of sex chromosomes on ASD was also implicated in humans. With improved knowledge about gender-specific mechanisms making males more susceptible for ASD and females less susceptible to ASD further research on mice models could provide new targets for drugs.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Raziskovalni rezultati tega projekta bodo pomembno vplivali na nadaljnji razvoj bazičnih interdisciplinarnih projektov v Sloveniji, ki jih na področju psihiatrije - veterine praktično ni. Raziskave procesov v možganih z živalskimi modeli so nujno potrebne zelo pomembne za prenos znanja v humane raziskave, kjer smo pri proučevanju možganov zelo omejeni.

ANG

Research project is important for development of basic interdisciplinary projects in Slovenia which are at the moment very poorly present especially in the use of animal models for psychiatric research

10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>

F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

--

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR

Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
Komentar		
Ocena		

13. Izjemni dosežek v letu 2015¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Veterinarska
fakulteta

Neža Grgurevič

ŽIG

Datum:

21.3.2016

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2016/31

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2015 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2016 v1.00

AF-27-0A-FB-74-64-98-7D-30-D8-5D-65-CE-36-D7-14-16-02-7A-9D