

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Uloga proteina obitelji DPP IV u kroničnim bolestima		
Trajanje projekta	12. ožujka 2014. - 2015. godine		
Ključne riječi (najviše do 5)	DPP IV/CD26, DPP8, DPP9, kronične upalne bolesti, pokusni modeli kolitisa.		
	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).	Upalne bolesti crijeva čine važan javnozdravstveni problem zbog stalnog porasta incidencije, a s druge strane, njihova patogenezu još uvijek nije u potpunosti razjašnjena, iako se istražuje dugi niz godina. Cilj projekta je utvrditi ulogu proteina obitelji DPP IV u mehanizmu razvoja kroničnih upalnih bolesti na pokusnom modelu ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti. Na uspostavljenim modelima bolesti u miševa kojima je inaktiviran gen za molekulu DPP IV/CD26 (CD26^{-/-}) te na divljem tipu miša (C57BL/6) ispitati će se: 1. neuroimunomodulacijska funkcija dipeptidil-peptidaze IV/CD26 (DPP IV/CD26) na sistemskoj i lokalnoj razini 2. uloga dipeptidil-peptidaze 8, i dipeptidil-peptidaze 9 u uvjetima nedostatka DPP IV/CD26 u fiziološkim i patološkim procesima. 3. aktivnost i ekspresija supstrata DPP IV/CD26 za koje se pretpostavlja da su uključeni u patofiziološke procese kroničnih bolesti, a čije je biološko djelovanje pod direktnom kontrolom enzima DPP IV obitelji. 4. promjene proteina DPP IV obitelji u metaboličkim poremećajima.		
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).	Predloženim istraživanjem očekuje se da će se utvrditi uloga i značaj molekule DPP IV/CD26 u neuroimunološkim mehanizmima koji dovode do razvoja kroničnih upalnih bolesti. Poznavanje uloge molekula DPP IV/CD26 u regulaciji bioloških učinaka svojih supstrata, upalnih medijatora, te u procesima aktivacije i proliferacije limfocita T pridonijeti će boljem razumijevanju patogeneze upalnih bolesti crijeva. Bolje poznavanje imunoloških procesa i patogeneze upalnih bolesti crijeva pruža nove dijagnostičke i terapijske mogućnosti. Saznanja dobivena predloženim istraživanjem mogu biti iskorištena u svrhu potencijalnog dizajniranja novih lijekova poput inhibitora peptidaza. Takvi bi lijekovi inhibicijom razgradnje ciljnih supstrata i modulacijom imunološkog odgovora organizma mogli povećati učinkovitost terapije, te time produžiti razdoblje remisije upalnih bolesti.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	U istraživanju će se koristiti: C57BL/6 i CD26^{-/-} miševi, starosti 8-10 tjedana, uzgojeni u Centaru za uzgoj i inženjering laboratorijskih miševa (LAMRI), Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci. Očekuje se da će istraživanje obuhvatiti oko 100 životinja za svaki soj.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Model ulceroznog kolitisa inducirat će se primjenom natrijevog dekstran sulfata otopljenim u vodi za piće, dok će se model Crohnove bolesti izazvati intrarektalnom aplikacijom klizme trinitrobenzensulfonske kiseline. Tijekom pokusnog perioda odnosno razvoja bolesti u oba modela razlikujemo razvoj kolitisa, akutnu fazu i oporavak, a kako bi se pratile promjene prisutne tijekom svih faza životinje će biti žrtvovane u različitim vremenskim intervalima.		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	Tijekom razvoja kolitisa, u oba modela, dolazi do pojave kliničkih simptoma bolesti uz dobro opće stanje pokusnih životinja te je stoga očekivana razina težine postupka blaga. U akutnoj fazi kolitisa klinički simptomi su najizraženiji. Očekivana razina težine postupka u modelu ulceroznog kolitisa je umjereno teška jer se očekuje gubitak tjelesne mase, dijareja, pojava krvi u stolici te smanjena aktivnost životinja. S druge strane, očekivana razina težine postupka u modelu Crohnove bolesti je blaga jer su sve promijene slabije izražene. Tijekom oporavka se ne očekuju negativni učinci, životinje mogu osjetiti prolaznu nelagodu te se je stoga očekivana razina težine postupka blaga. Ukoliko se tijekom pokusnog razdoblja procijeni da će biti narušena dobrobit životinja, bez obzira jesu li postignuti ciljevi eksperimenta, životinja će biti izuzeta iz pokusa te će se primijenit humana krajnja točka.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Prema podacima iz dostupne literature te bazama podataka koje istražuju alternativne metode istraživanja za sada ne postoji znanstveno prihvatljiva metoda koja ne uključuje pokusne životinje, a kojom bi se mogao pratiti razvoj upalne bolesti crijeva te je stoga korištenje životinja u ovim istraživanjima neophodno.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Na temelju prethodnih istraživanja, statističkih analiza te preciznog dizajna eksperimenta, broj životinja koji se planira koristiti u pokusima sveden je na minimalnu razinu, a da pri tome bude osigurana zadovoljavajuća statistička značajnost.
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.	Animalni modeli upalnih bolesti crijeva od neprocjenjive su vrijednosti u proučavanje patogeneze i otkriću molekula i spojeva s regulacijskim i protuupalnim djelovanjem. Prednosti izabranih modela očituju se u jednostavnosti induciranja kolitisa, pouzdanosti u odnosu na vrijeme pojavljivanja i intenzitet promjena, te velike sličnosti s imunskim, histopatološkim i kliničkim aspektima humanog oblika bolesti. Također, ovim modelima osiguran je razvoj bolesti s najmanjim posljedicama na životinje, što uključuje nisku stopu smrtnosti uz visok stupanj reproducibilnosti. Budući da su u odabranim modelima jasno izražene sve faze bolesti kao i u čovjeka, moguće je istraživati ulogu DPP IV/CD26 te ostalih proteina iz obitelji DPP IV kako u patogenezi tako i tijekom cijeljenja upalno promijenjene sluznice crijeva. U cilju provođenja poboljšanja dobrobiti životinja, brigu o životinjama vodit će educirano i stručno osposobljeno osoblje te će se primijenjivati anestezija i druge metode oplemenjivanja postupka prema životinjama. Nadalje, provoditi će se sustavni monitoring životinja kako bi se pravovremeno primijetila moguća bol, patnja ili tjeskoba životinja te uklonila ili smanjila na najmanju moguću mjeru. Svi postupci u istraživanju provest će se u skladu s najvišim standardima u smislu dobrobiti životinja poštujući upute - Directive 2010/63/EU te smjernice National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. (www.nc3rs.org.uk).