

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Nutritivna modulacija dokozaheksaenske kiseline kod dijabetičke dislipidemije		
Trajanje projekta	3 godine (1. 10. 2015. – 1. 10. 2018.)		
Ključne riječi (najviše do 5)	DHA, dijabetes, masne kiseline, metabolom		
	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).	U projektu ćemo istražiti učinak n3/n6 omjera lipida hrane i direktnog dodatka DHA kod dijabetesa tipa 1 i 2 na metabolizam DHA, oksidaciju u mitohondrijima i peroksisomima i DHA metabolom. Naša pretpostavka je da hranidbena modulacija može umanjiti učinak inzulina kod dijabetičke dislipidemije što može imati veliko značenje u tretmanu dijabetesa. Dodatno ćemo istražiti koji enzimi uključeni u mitohondrijsku i peroksisomsku β-oksidaciju mogu biti regulirani lipidima hrane. Istraživanja će biti provedena na Wistar štakorima koji će biti nasumično podijeljeni u skupine s različitim hranidbenim tretmanima od varirajućih n3/n6 razina i povećane koncentracije DHA. Ovi hranidbeni tretmani će predstavljati moguće varijable u dijabetičkoj dislipidemiji koje mogu utjecati na koncentraciju DHA u plazmi i tkivima. Integracija rezultata iz pokusa 1 i 2 objasniti će promjene u koncentracijama DHA kod različitih tipova dijabetesa. Istraživanja na subcelularnoj razini omogućiti će utvrđivanje učinka dijabetesa na mitohondrijsku i peroksisomsku β-oksidaciju i metabolizam DHA. Istraživanje metaboloma DHA povezat će prehranu, dijabetes i bioaktivne produkte DHA. Naposljetku, podaci iz cjelokupnog projekta rezultirat će integracijom znanja i boljim razumijevanjem biosinteze DHA.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprjeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Koncentracije DHA u plazmi i tkivima određene su unosom hrane, kompeticijom za enzime između n3 i n6 linije i endogenim metabolizmom masnih kiselina što može biti promijenjeno u dijabetesu. Tijekom prve i druge faze istraživanja utvrdit ćemo nepoznate učinke DM1 i DM2 na elongaze, desaturaze i transkripcijske faktore uključene u metabolizam lipida kao i mogućnosti nutritivne modulacije masnokiselinskog sastava kod dijabetesa dodavanjem lipida različitog n3/n6 omjera u hranu. Pokusi u fazama 4 i 5 omogućiti će nam daljnje proučavanje tih razlika sa sljedećim ciljevima: utvrđivanje učinka n3/n6 omjera hrane na dijabetičku dislipidemiju i učinak n3/n6 omjera na količinu DHA u fosfolipidima tkiva. Integracija rezultata iz pokusa 1 i 2 omogućiti će utvrđivanje razloga neuobičajenih razina DHA kod dijabetesa. Naša pretpostavka je dokazivanje činjenice kako modifikacija lipida hrane može umanjiti učinak inzulina (nedostatak, povišena razina, rezistencija) na dijabetičku dislipidemiju što može imati značajan utjecaj na terapiju dijabetesa. U 6. fazi razlučiti ćemo učinke DM1 i DM2 prema subcelularnoj lokalizaciji. Ovaj dio projekta treba utvrditi učinak dijabetesa na peroksisomsku i mitohondrijsku beta oksidaciju kao i definirati razlike. Dodatno, pokušat ćemo definirati ključne enzime mitohondrijske i peroksisomske beta oksidacije koji mogu utjecati na metabolizam DHA putem lipida hrane. Korištenjem		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	multiple regresije, s prehranom, omjerom lipida hrane, mitohondrijskom i peroksisomskom beta oksidacijom, starosti, dobi, spolom i metaboličkim pokazateljima kao varijablama, pokušat ćemo pronaći neovisnu povezanost DM1 i DM2 s vrijednostima DHA u plazmi i tkivima. U 7. fazi naša pretpostavka je kako dijabetes može značajno promijeniti DHA metabolom, ali da hranidbena intervencija može, barem dijelom, vratiti vrijednosti na normalu. Posebna pažnja posvetit će se zaštitnim bioaktivnim tvarima, neuroprotektinima i oksidativnim produktima, izoprostanima. Posljednji cilj je povezivanje i integracija svih podataka dobivenih u projektu što treba doprinijeti općem razumijevanju metabolizma DHA i dokazivanju da ovakav pristup može donijeti novo znanje u razumijevanju složene biosinteze DHA koja je predložena od Sprechera 1991. Dobivene spoznaje doprinijeti će novim pristupom liječenju šećerne bolesti.
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Štakori wistar, 120 životinja
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Životinje će tijekom istraživanja razviti simptome dijabetesa tipa 1 i 2. Osim simptoma dijabetesa životinje neće biti izvrnute drugim postupcima i zahvatima koji bi mogli narušiti njihovo zdravlje i dobrobit. Nakon završetka istraživanja sve životinje će biti usmrćene iskrvarenjem u općoj anesteziji.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Životinje se učestalo koriste u biomedicinskim istraživanjima dijabetesa. Trenutno se najviše istraživanja provodi na glodavcima, iako se neka istraživanja provode i na većim životinjama. Dijabetes je složena, multikauzalna, metabolička bolest s velikim brojem simptoma i zahvaćenih organskih sustava. Tako složene bolesti se za sada ne mogu proučavati na staničnim kulturama i linijama niti na zoološki nižim vrstama životinja od štakora. Zbog toga trenutno ne postoje zadovoljavajuće alternativne metode istraživanja dijabetesa koje bi isključile korištenje životinja.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Minimalni broj životinja je osiguran primjenom statističkih metoda za određivanje minimalno potrebnog broja životinja za dobivanje statistički opravdanih rezultata (Power analyses). Analize su rađene na osnovi dosadašnjih vlastitih istraživanja i na osnovi pregleda literature.
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.	Premda dijabetes kod štakora ne može u potpunosti odgovarati stanjima u ljudskom organizmu, pokusno uzrokovan dijabetes kod štakora je još uvijek najzastupljeniji model. Njegova prednost u odnosu na genetski induciran spontani dijabetes je u nižoj cijeni, jednostavnosti i dostupnosti životinja. Streptozotocinski model kod štakora kao i modeli dijabetesa tipa 2 su još uvijek najprimjereniji analog komplikacijama kod nekontroliranog dijabetesa kod ljudi. Uvjeti u kojima će životinje boraviti tijekom trajanja pokusa u skladu su sa suvremenim praksama u radu sa laboratorijskim životinjama (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, NIH, 2010). Životni prostor životinja u pokusu biti će obogaćen na način da životinje mogu iskazati raspon svojeg uobičajenog ponašanja a da to ne ugrožava očekivani ishod istraživanja. Mikrookoliš (temperatura zraka, osvjetljenje, relativna vlažnost zraka i buka) u kojem će životinje boraviti tijekom pokusa u skladu je sa standardnim operativnim postupcima pri radu u Jedinici za laboratorijske životinje, a koji se odnose na tretman životinja u pokusu.