

OBRAZAC 3

Naslov projekta	<i>Uloga bradikinina u ishemiji mozga i mrežnice u mišjim modelima dijabetesa - BRADISCHEMIA</i>		
Trajanje projekta	<i>01/03/2018 - 28/02/2023</i>		
Ključne riječi (najviše do 5)	<i>Dijabetes, ishemija, bradikinin, moždani udar, dijabetička retinopatija</i>		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):		
	Temeljno istraživanje	☒	ne
	Translacijska i primijenjena istraživanja	☒	ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja	da	☒
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje	da	☒
	Očuvanje vrste	da	☒
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje	da	☒
	Forenzička ispitivanja	da	☒
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima	☒	ne
Opišite ciljeve projekta (na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	<i>Dijabetes je kronična bolest koja obuhvaća metaboličke poremećaje obilježene povišenom razinom glukoze u krvi kao posljedicom nedovoljne proizvodnje inzulina, rezistencije na djelovanje inzulina ili obaju mehanizama. Trenutno pola milijarde ljudi diljem svijeta ima dijabetes. Tijekom trajanja dijabetesa, trećina oboljelih razvije ishemijski moždani udar, trećina razvije dijabetičku retinopatiju, a obje navedene komplikacije dovode do ozbiljnog invaliditeta s neizmjerimim socioekonomskim utjecajem. S patofiziološkog gledišta, i dijabetička retinopatija i moždani udar karakterizirani su ishemijom. Bradikinin je među prvim upalnim čimbenicima koji se javljaju s nastupom ishemije. Bradikinin povećava permeabilnost krvno-moždane/žilnične barijere, inducirajući nastanak edema. Budući da aktivacija njegovih receptora pridonosi nastanku edema i oštećenju tkiva modulacijom post-ishemijskog upalnog odgovora, potraga za inhibitorima koji bi mogli smanjiti te štetne učinke postala je važan cilj. Ipak, uloga bradikininских receptora nije jednostrana, budući da su zabilježeni i razni povoljni učinci njihove aktivacije, poput prevencije odumiranja endotelnih stanica, redukcije glutamatne neurotoksičnosti, te preživljenja i migracije glija stanica. Ova dovojak uloga bradikininских receptora poticaj je za naše istraživanje, kojim ćemo istražiti ulogu bradikininškog receptora tipa 2 u dvama specifičnim komplikacijama koje se razvijaju u tijeku dijabetesa: dijabetičkoj retinopatiji i moždanom udaru. Korištenjem uspostavljenih modaliteta snimanja magnetskom rezonancijom, omogućit će nam longitudinalno praćenje razvoja ishemijske moždane ozljede. Također planiramo unutar već uspostavljenog laboratorija razviti s novu platformu za multimodalno pretkliničko istraživanje bolesti mrežnice, prvu platformu takve vrste u Republici Hrvatskoj, a koja bi otvorila mogućnosti novim i sveobuhvatnijim pretkliničkim istraživanjima ekperimentalnih terapija i učinkovitijoj translaciji prema klinici. Zaključno, osnovna namjena ovog projekta je istražiti ulogu bradikininškog receptora tipa 2 u razvoju ishemijskog oštećenja kako u moždanom udaru tako i u dijabetičkoj retinopatiji koje se</i>		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	<i>razvijaju u podlozi dijabetesa. Očekujemo da će ovaj projekt imati važan učinak u poticanju istraživanja u području dijabetesa u Hrvatskoj.</i>
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).	<i>Dijabetes kao globalna epidemija modernog doba ima izrazito negativan učinak na duljinu i kvalitetu života. Neizmjeran socioekonomski utjecaj dijabetesa odražava se prvenstveno u visokom mortalitetu, koji je uzrokovan komplikacijama dijabetesa, rastućim troškovima javnozdravstvenog sustava i gubitku radne snage s obzirom da je populacija koju dijabetes pogađa sve mlađa. Ovim projektom želimo istražiti ulogu upalnog čimbenika bradikinina i njegovog receptora tipa 2 u razvoju ishemijskog oštećenja razvijaju u podlozi dijabetesa tipa I i II. Upotrebom genetski modificiranih miševa, biti ćemo u mogućnosti odrediti učinke bradikininiskog receptora na razvoj ishemijskog oštećenja kako mozga tako i retine koji se razvijaju u 30% pacijenata sa dijabetesom. S obzirom da je ovim projektom predviđeno razvijanje platforme za istraživanje bolesti retine, očekujemo da će ovaj projekt imati važan učinak u poticanju bazičnih i kliničkih istraživanja ne samo dijabetesa već i bolesti koje se razvijaju njegovoj podlozi poput ishemijskog moždanog udara i dijabetičke retinopatije. Zbog toga mislimo da je ovaj projekt od velikog biološkog, kliničkog i socijalnog značaja te potencijalnu translaciju prema klinici.</i>
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	<i>U istraživanju će se koristiti laboratorijski miševi. Broj miševa koji će se koristiti tijekom navedenog perioda je 517.</i>
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	<i>Obzirom da do željenih rezultata nije moguće doći in vitro postupcima, ili putem drugih znanstvenih metoda, planiramo koristiti minimalan broj laboratorijskih životinja koje će se podvrgnuti pokusu koji će se provoditi prema načelima dobre laboratorijske prakse, te u skladu sa preporukama iz relevantne literature. Sve pokusne zahvate na životinjama smo temeljito tehnički i metodološki proučili, pripremili i prilagodili, tako da su maksimalno usmjereni na smanjivanje patnje životinja tijekom pokusa. Životinjama kojima smo prehranom inducirali dijabetes tipa II ili miševima koji spontano razvijaju dijabetes tipa I provoditi će se test tolerancije na glukozu ili test na inzulinsku rezistenciju u određenim vremenskim perioda, a po završetku pokusa životinje će biti usmrćene, a njihovi organi/stanice analizirani. U svrhu smanjivanja težine postupaka koristiti ćemo inhalacijski anestetik kako bismo izbjegli prolaznu blagu nelagodu nakon injekcija i učinili razinu težine postupka blagom. Pojedininim grupama životinja bit će injicirano intavitalno kontrastno sredstvo, što će biti izvedeno pod utjecajem inhalacijskog anestetika. Očekivana razina težine postupka je blaga. Pri postupcima snimanja magnetskom rezonancijom biti će korišten inhalacijski anestetik kako bi se omogućilo neometano snimanje u in vivo uvjetima. Također pojedini miševi će biti podvrgnuti operacijskom postupku začepljenja središnje moždane arterije, ali zbog korištenja anestezije i analgezije u skladu sa pravilima veterinarske struke životinje neće ili će trpjeti minimalnu bol. Očekivana razina težine postupka je umjerena.</i>
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti	<i>Životinje će se koristiti s obzirom da ne postoji alternativna metoda za pretkliničko in vivo istraživanje utjecaja</i>

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

Životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	<i>bradikininskih receptora na razvoj ishemijskog oštećenja mozga i retine u dijabetesu. S obzirom na kompleksnost patofizioloških procesa nastanka ishemijskog oštećenja te kompleksnost patofizioloških promjena u dijabetesu zbivanja koja možemo pratiti longitudinalnim in vivo snimanjem transgeničnih miševa koje nose mutaciju za bradikininski receptor bilo bi nedostavno zamijeniti modelom staničnih kultura. Zbog etičkih razloga, slična istraživanja na humanoj populaciji su vrlo ograničena ili nisu moguća. Zbog navedenog, razvijeni su mišji model za dijatom inducirano razvoja šećerne bolesti tipa II, transgenični model heterozigot za <i>Ins2</i> mutaciju koji spontano razvija dijabetes tipa I, oba modela se koriste kao modeli dijabetičke retinopatije, te model okluzije središnje moždane arterije kao model moždanog udara.</i>
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	<i>Istraživanje je planirano na najmanjem mogućem broju laboratorijskih životinja, a da pritom rezultati budu statistički valjani bez ugrožavanja ciljeva projekta. Primjenom neinvazivnih tehnika snimanja (MR, fundus fotografija, angiografija i intraokularno mjerenje tlaka) u planiranim pokusima značajno se smanjuje broj potrebnih životinja jer se iste životinje prate longitudinalno u dužem vremenskom periodu.</i>
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.	<i>S obzirom da je diabetes kronična bolest u kojima sudjeluje više organskih sustava, nemoguće je iste istraživati na staničnim kulturama in vitro. Također, s obzirom na kompleksnost patofizioloških proces koji prate oštećenja mozga i mrežnice nemoguće je iste istraživati na staničnim kulturama in vitro. Zbog etičkih razloga provođenje kliničkih istraživanja na humanoj populaciji bez prethodnih istraživanja na animalnim modelima su vrlo ograničena ili nisu moguća. Zbog navedenog, planirano je korištenje uspostavljenih modela dijabetesa kod transgeničnih životinja koje nose mutaciju za istraživani receptor. U pomno isplaniranom istraživanju očekivana razina težine postupaka biti će blaga, osim u slučaju začepjenja središnje moždane arterije pri čemu će biti umjerena. Životinjama će tijekom svih postupaka biti praćeni znakovi nelagode ili stresa te će u slučaju pojave problema sa zdravljem ili promjene razine dobrobiti životinje biti usmrćene na human način.</i>

