

Naslov projekta	„Utjecaj primjene 13 – cis retinoične kiseline i visokomasne prehrane na razvoj metaboličkog sindroma i inzulinske rezistencije u Lewis štakora“		
Trajanje projekta	1.5.2019. – 1.5.2021.		
Ključne riječi (najviše do 5)	isotretinoin, visokomasna prehrana, metabolički sindrom, pretilost		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika)		
	Temeljno istraživanje	da	ne
	Translacijska i primijenjena istraživanja	da	ne
	Konstatacije 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 konstate u drugim postupcima	da	ne
Opišite ciljeve projekta (na primjer, znanstveni nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Pretilost jest metabolički problem s ozbiljnim posljedicama. Masno tkivo smatra se endokrinim organom zbog potencijala nakupljanja lipida i slobodnih masnih kiselina u masnim kapljicama adipocita, te lučenja brojnih proupalnih hormona i adipokina, osobito u stariju pretilost. 13cRA je aktivni metabolit vitamina A i kritična signalna molekula uključena u mnoge biološke procese uključujući regulaciju tjelesnih masti i razine glukoze u krvi. Poremećaj homeostaze u regulaciji tjelesnih masti i razine glukoze u krvi povezan je s poremećajem u regulaciji endokrinih hormona koji mijenjaju metabolizam lipida i glukoze. S obzirom da se 13 – cis retinoična kiselina redovito primjenjuje u dermatološkoj praksi za liječenje niza kliničkih entiteta, u prvom redu najtežeg oblika acne vulgaris, a uzimajući u obzir činjenicu da od navedene dijagnoze boluju uglavnom pacijenti mladih dobrih skupina, temeljem brojnih nejasnoća uloge 13cRA u organizmu u normalnim uvjetima te uvjetima pretilosti cilj rada jest istražiti: 1. utvrditi ulogu 13cRA na metaboličke poremećaje u uvjetima normalne prehrane i prehrane obogaćene mastima ureko: a) promjena u regulaciji razine ključnih adipokina (leptina, adiponektina i resistina) b) naci funkcionalnu poveznicu između razine ključnih adipokina i inzulinske rezistencije c) istražiti učinak 13cRA na imunosne određivače i razvoj upale te njihov doprinos inzulinskoj rezistenciji d) naci poveznicu između upalnih određivača, citokinske regulacije i makrofagne polarizacije e) naci poveznicu između primjene niskih i visokih doza 13cRA te kratkotrajnog i dugotrajnog učinka na adipokine, imunosnu upalnu regulaciju makrofagnu polarizaciju, inzulinsku rezistenciju i aterogene pokazatelje f) utvrditi koje od imunosnih i hormonskih poremećaja najviše doprinosi inzulinskoj rezistenciji te poremećajima povezanim s hiperlipidemijom i hipertrigliceridemijom g) koliki je doprinos 13cRA u povećanju ili smanjenju aterogenih pokazatelja, očuvanju krvožilne funkcije i stoga te hepatocelularne funkcije		

Izjava o odgovornosti i doprinosu

	h) naci poveznicu između razine oksidacijskog stresa upalnih odrednica polarizacije makrofaga i aterogenih pokazatelja e) naci poveznicu između primjene niskih i visokih doza 13cRA te kratkoročnog i dugoročnog učinka na adipokine, imunosnu i upalnu regulaciju makrofagnu polarizaciju i inzulinsku rezistenciju i aterogene pokazatelje f) temeljem veće učestalosti pretilosti kod žena te učinka 13cRA na estrogen; istražiti razlike u svim navedenim odrednicama između spola g) općenito, zaključiti o kratkoročnom i dugoročnom učinku visokomasne prehrane i 13 – c RA na osnovi promatranja gore navedenih parametara i to primijeniti u konkretnom kliničkom radu s pacijentima
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)	Prekomjerna tjelesna težina i pretilost složeni su poremećaji čija pojavnost poprirna epidemijske razmjere u posljednjih nekoliko desetljeća posebice u mladim dobnim skupinama. Pretilost je rizični čimbenik za razvoj niza metaboličkih poremećaja poput metaboličkog sindroma, dijabetesa tipa II, dislipidemije, ateroskleroze, inzulinske rezistencije, hepatičkih poremećaja – hepatosteatoze i NASH, te povećanja morbiditeta i mortaliteta u populaciji (2). Pretilost vodi kroničnoj upali organizma i nakupljanju upalnih stanica u masnom tkivu, posebice makrofaga. S pretilošću se povezuje povećana razina cirkulirajućeg vitamina A ili serumskog retinol-veznog proteina (engl. <i>retinol binding protein</i>, RBP4), ključnog za transport retinola u krvi s dijabetesom tipa-2. Povećana ekspresija RBP4 u masnom tkivu miševa povezuje se s inzulinskom rezistencijom u mišićima i jetri te s oslabljenom inzulinom i narušenom homeostazom glukoze u dijabetesu tipa 2. Međutim, istraživanja pretilosti ili dijabetes tipa 2 kod ljudi i otpornosti na inzulin su bitno kontroverzna s obzirom na razinu RBP4. 13cRA je aktivni metabolit vitamina A i kritična signalna molekula uključena u mnoge biološke procese uključujući regulaciju tjelesnih masti i razine glukoze u krvi. Poremećaj homeostaze u regulaciji tjelesnih masti i razine glukoze u krvi povezan je s poremećajem u regulaciji endokrinih hormona koji mijenjaju metabolizam lipida i glukoze. Razumjevanje uloge 13cRA mogao bi biti temelj za farmakološku terapiju liječenja pretilosti i dijabetes tipa 2 i drugih metaboličkih poremećaja u predkliničkim modelima kako bi se pozitivni nalazi mogli primijeniti na ljude.
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinje, vjerojatna očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Lewis štakori, približno 96 životinje U tijeku pokusa uslijed injiciranja 13 – cis retinoične kiseline fiziološke i topin gastričnom kanilom re očekujemo promjene u ponašanju životinja. Očekuje se da će i kod uznapredovalih promjena razina težine pokusa biti minimalna. Sve će životinje na kraju pokusa u trajanju od 30 dana odnosno 60 dana biti žrtvovane, te će se izvršiti njihovo neškodljivo uklanjanje i iznjanjavanje lešina.
Primjena načela 3R 1. Zamjena Kako biste zašto se moraju koristiti životinje i zašto, svim mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Proučavanje utjecaja 13 cis retinoične kiseline i visokomasne prehrane na biokemijske i hormonske parametre može se proučavati u ljudi na patohistološke promjene pojedinih organa, međutim izazivanje imunomodulacijskih čimbenika i analiza parametara koja se odnose na pretilost otežana je na humanom modelu jer se radi o uglavnom mladim pacijentima koji primaju 13 – cRA (Isotretinoin) najpogotnije zbog postojećih kontraindikacija. Na humanom je modelu puno teže postići ujednačene uvjete istraživanja posebice okolišni i stresni uvjeti, prehrane i životne navike mogu uzrokovati razliku u razini hormona, glukoze i ostalih odrednica. Također, veća genska i rasna raznolikost zahtijevala bi veći broj ljudi. Kontrola je često upalnih i imunomodulatornih nedostataka su za razumjevanje gore navedenih promjena.

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja	U pokusu će se koristiti najmanji mogući broj životinja s obzirom na svrhu istraživanja. Kako bi rezultati dosegli statističku značajnost u analizi kvantitativnih varijabli jednosmjernom analizom varijance s $p < 0.05$, za navedeni se tip istraživanja preporučuje uzeti najmanje 8 životinja po skupini, pa će tako biti učinjeno i u ovom istraživanju.
3. Pобољшanje Opisati 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.	Životinje u pokusu držati će se u uobičajenim uvjetima za održavanje laboratorijskih životinja (hranjenje, njega) te s obogaćenim okolišem i materijalima za grizenje, trganje i manipuliranje. Stakorski se organizam u 98% poklapa s humanim što odražava nužnost: proučavanja mehanizama humane imunomodulacije, patohistoloških i metaboličkih promjena na modelima sisavaca. Sa životinjama će se tijekom pokusa postupati u skladu s propisima o dobrobiti životinja. Prije žrtvovanja, sve životinje biti će adekvatno anestetizirane i analgezirane intraperitonealnom primjenom kombinacije ketamina i ksilazina.

Zagreb, 1. srpnja 2019.

