

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Imunomodulacijski učinci mastocita i eozinofila u mikrookolišu tumora mokraćnog mjehura		
Trajanje projekta	od 01.06.2020. do 01.06.2025.		
Ključne riječi (najviše do 5)	tumor mokraćnog mjehura, mikrookoliš tumora, mastociti, eozinofili, IL-33		
	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 (<i>na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe</i>).	Svrha projekta je spoznavanje mehanizama koji sudjeluju u nastanku i razvoju zloćudnih tumora mokraćnog mjehura, a s ciljem korištenja tih spoznaja za pronalaženje novih dijagnostičkih markera zloćudnih bolesti i stvaranja pretpostavki za razvoj novih lijekova. Projektom se planiraju proučavati tumori mokraćnog mjehura, a primarni naglasak tih proučavanja biti će na međudnosu imunološkog sustava i malignih tumora. Cilj ovog projekta je istražiti ulogu mastocita i eozinofila u nastanku i razvoju tumora mokraćnog mjehura u svrhu poboljšavanja postojećih imunoterapijskih mogućnosti. Ulogu mastocita i eozinofila istraživat ćemo korištenjem mišjeg modela tumora mokraćnog mjehura induciranog kemikalijom N-butyl-N-(4-hidroksibutil)-nitrozamin (BBN).		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (<i>kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta</i>).	Modulacijom učinaka mastocita i eozinofila u mikrookolišu tumora istražiti će se njihov protu-tumorski potencijal. Rezultati ovog projekta unaprijedit će razumijevanje uloge mastocita i eozinofila u tumorigenezi mokraćnog mjehura i pružit će osnove za daljnji razvoj liječenja tih tumora. Izmjena tumorskog mikrookoliša, djelovanjem na mastocite i eozinofile, ima velik potencijal u borbi protiv tumora mokraćnog mjehura koji recidiviraju ili su otporni na postojeće terapije.		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Odrasle jedinke: 450 životinja C57BL/6J (210), BALB/cJ (90) Deficijencija mastocita - soj KitW-sh/W sh (B6.Cg KitW-sh/HNihJaeBsmJ) (50) Deficijencija eozinofila - soj ΔdblGATA (C.129S1(B6)-Gata1tm6Sho/J) (50) Deficijencija mastocita soj Cpa3-Cre; Mcl1flox/flox križanjem Cpa3-Cre (C57BL/6-Tg(Cpa3-cre)4Glli/J) i Mcl1flox/flox (B6;129-Mcl1tm3Sjk/J) (50) 10 jedinki određenog soja po eksperimentu (tretman BBN, korištenje inhibitora ili aktivatora, deplecija protutijelima, subkutani model) (50)
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Životinjama će se inducirati tumor mokraćnog mjehura. Tijekom tog tretmana aplicirati će se intraperitonealno razni aktivatori, inhibitori, interleukini, neutralizirajuća protutijela koja bi trebala utjecati na tijek razvoja tumora mokraćnog mjehura. Stanice tumora mokraćnog mjehura MB49 aplicirat će se subkutano u bok stražnje noge miša tijekom anestezije. Pratiti će se razvoj tumora tijekom dva tjedna. Očekuje se umjereni utjecaj na zdravlje i dobrobit životinja prije eutanazije.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Projekt se bavi vezom imunološkog sustava i malignih bolesti i kao takav biološki je izuzetno složen. Nužno je korištenje životinjskih modela zbog postojanja različitih sustava koji doprinose razvoju bolesti (prvenstveno se to odnosi na imunološki sustav). Bilo bi nemoguće u potpunosti pratiti sinergiju imunološkog odgovora organizma i razvoja tumora npr. pomoću stanične kulture stanica, ili korištenjem nekog drugog, biološki manje kompleksnog organizma. Imunološki sustav miševa dobro je istražen i dovoljno sličan onome čovjeka da bi se podaci mogli ekstrapolirati na čovjeka. Također, miševi se standardno koriste u modelima nastanka tumora kod sisavaca. Zbog ovih činjenica smatramo da je eksperimentalni rad upravo na miševima onaj koji će polučiti najbolje rezultate. Također, dio istraživanja će se raditi i na staničnim linijama i kulturi stanica, a da bi se izbjeglo žrtvovanje miševa (stanične linije MB49, RT4 i T24).

2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Broj životinja sveden je na najmanji koji je uobičajen u ovakvoj vrsti istraživanja. Za svaki eksperiment izračunat je minimalni broj životinja koji daje prihvatljivu statističku snagu, temeljem prethodnih istraživanja. Na taj način osigurava se korištenje minimalnog broja životinja koji jamči snagu studije i pouzdanost dobivenih rezultata, dobivanje statistički valjanih zaključaka a bez potrebe za ponavljanjem pokusa. Postoje već unaprijed definirani brojevi životinja koji su prihvaćeni u znanstvenoj literaturi, a koji garantiraju statističku značajnost rezultata. Istraživači koji će raditi na ovom projektu strogo će se pridržavati tih podataka i tako svesti broj korištenih životinja na minimum.
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.	Ulogu mastocita i eozinofila istraživat ćemo korištenjem mišjeg modela tumora mokraćnog mjehura induciranog kemikalijom N-butil-N-(4-hidroksibutil)-nitrozamin (BBN). U istraživanju će se koristiti miševi kojima nedostaju mastociti i eozinofili (tzv. knock-out mišji modeli), neutralizirajuća protutijela za uklanjanje mastocita i eozinofila kao i subkutani model tumora mokraćnog mjehura. U istraživanjima će se koristiti divlji sojevi miševa (C57BL/6J i BALB/cJ) kao i miševi bez mastocita ili eozinofila, uklanjanjem jednog gena, tzv. knock-out miševi (sojevi miševa KitW-sh/W-sh (B6.Cg-KitW-sh/HNhrJaeBsmJ), ΔdblGATA (C.129S1(B6)-Gata1tm6Sho/J), Cpa3-Cre; Mcl1flox/flox križanje dva soja - Cpa3-Cre (C57BL/6-Tg(Cpa3-cre)4Gll/J) i Mcl1flox/flox (B6;129-Mcl1tm3Sjk/J)). Eksperimentalne tehnike se temelje na načelu poboljšanja tako da se moguća bol, patnja, tjeskoba ili trajno oštećenje uzrokovano životinjama ukloni ili smanji na najmanju moguću mjeru. Postupke sa životinjama će provoditi/nadzirati adekvatno educirane osobe, s dugogodišnjim iskustvom u navedenim istraživanjima. Stanje svih životinja koje će sudjelovati u pokusu biti će svakodnevno praćeno (izgled, ponašanje, težina).

