

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Uloga mikrobiote u razvoju raka mokraćnog mjehura		
Trajanje projekta	od 01.04.2020. do 01.04. 2025.		
Ključne riječi (najviše do 5)	tumor mokraćnog mjehura, mikrobiom, metabolizam, BBN		
	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).	Ciljevi projekta su: - Otkrivanje utjecaja mikroorganizama (mikrobiote, mikrobioma) na razvoj tumora mokraćnog mjehura (TMM) i - Utvrđivanje sudbine karcinogena (poput butil-(4-hidroksibutil)-nitrozamin, BBN) u organizmu. TMM mogu biti izazvani parazitom <i>Schistosoma haematobium</i>, a bakterije <i>Bacillus Calmette Guerin</i> ih mogu izliječiti, iz čega je očito da je proučavanje uloge mikroorganizama u nastanku TMM-a iznimno važno. BBN uzrokuje tumore mokraćnog mjehura te je prisutan u duhanskim proizvodima pa istraživanje njegove sudbine u organizmu može imati direktan značaj za ljudsko zdravlje.		
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).	Testiranje utjecaja mikroorganizama na razvoj raka mokraćnog mjehura može nam objasniti kako bakterije utječu na razvoj bolesti te može li se djelovanjem na mikroorganizme utjecati na tijek TMM. Pročavati će se i molekule važne za reakciju na mikroorganizme - TLR4 i MyD88. Projektom će se utvrditi uloga bakterija i molekula TLR4 i MyD88 u tumorima mjehura iz čega mogu proizići nove preventivne (npr. traženje opasnih bakterija u urinu zdravih osoba) i terapijske procedure (antibiotsko tretiranje bakterija i inhibiranje spomenutih molekula u oboljelih od TMM). Proučavanja sudbine karcinogena BBN-a u organizmu (tzv. farmakokinetika) unaprijediti će razumijevanja nastanka raka mokraćnog mjehura pod utjecajem kemijskih karcinogena.		

	Budući da su duhanski nitrozamini najčešći poznati uzročnici raka mjehura u ljudi, saznanja koja dobijemo unaprijediti će razumijevanje TMM-a i medicinskog odnosa prema tim tumorima.
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Laboratorijski miševi soja C57BL, divlji tip, procjena 338 jedinki. Miševi uzgajani bez mikroorganizama, istog soja, 84 jedinki. Miševi s deficitentnom molekulom TLR4, 96 jedinki. Miševi s deficitentnom molekulom MyD88, 84 jedinki.
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	U pokusima indukcije tumora mokraćnog mjehura BBN-om očekivan je umjereni učinak na dobrobit životinja. Prvi znak tumora mjehura čovjeka je bezbolna hematurija (krv u urinu), a kako tijekom pokusa miševi gotovo nikada nemaju hematuriju procjenjujemo da je razina boli u miševa minimalna. U farmakokinetičkom pokusu očekuje se minimalni utjecaj na zdravlje i dobrobit životinja jer pokusi traju kratko. Na kraju pokusa životinje se humano usmrćuju.
Primjena načela 3R	
1.Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	U eksperimentima je predviđeno korištenje životinjskog modela jer proučavamo nastanak tumora i sudbinu karcinogena u tijelu, što nije moguće proučavati drugačije. Budući da više organskih sustava utječe na te procese iste je nužno proučavati na živim organizmima. U svrhu smanjenja broja životinja dio pokusa koji se odnosi na jetreni metabolizam BBN-a provesti će se na staničnim kulturama.
2.Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	U svim pokusima koristit će se minimalan broj životinja koji je utvrđen analizom prethodnih, sličnih studija. Navedeni broj životinja osigurat će primjerenu statističku vrijednost što će osigurati utemeljenost zaključaka dobivenih planiranim pokusima, zbog čega takve pokuse nitko drugi neće trebati ponavljati.
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.	Miševi su optimalan model u proučavanju tumora. To se najbolje vidi na otkriću imunoterapije, koja je prva onkološka terapija koja može uistinu izliječiti zloćudne tumore. Provođeci pokuse na miševima James P. Allison je pokazao da inhibicija molekule CTLA-4 spriječava razvoj tumora (DOI:10.1126/science.271.5256.1734). Poslije je pokazano da isti učinak postoji i kod ljudi za što je J.P. Allison 2018. godine dobio Nobelovu nagradu. U svim pokusima poštovati će se temeljna načela rada sa životinjama sa svrhom smanjenja boli i patnje, kao i obogaćivanje okoliša materijalom za gniježđenje te redovito praćenje općeg stanja životinja koje su u pokusu, te primjena humanih krajnjih točki u predviđenim okolnostima.