Inducirani animalni modeli u fiziologiji i imunologiji

Derežić, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:407215

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

INDUCIRANI ANIMALNI MODELI U FIZIOLOGIJI I IMUNOLOGIJI

INDUCED ANIMAL MODELS IN PHYSIOLOGY AND IMMUNOLOGY

SEMINARSKI RAD

Ivana Derežić

Preddiplomski studij Znanosti o okolišu

(Undergraduate study of Environmental Science)

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršolić

Zagreb, 2015.

SADRŽAJ:

1.Uvod 1

2. Inducirani model dijabetesa 2

2.1. Inducirani model dijabetesa melitusa tipa I 3

2.2. Inducirani model dijabetesa mellitusa tipa II 5

2. Inducirani model osteoporoze 7

3. Inducirani model upalnih bolesti crijeva 9

4. Inducirani model psorijaze 11

5. Inducirani model bolesti centralnog živčanog sustava 12

5.1. Inducirani model Alzheimerove bolesti 12

5.2. Inducirani model Parkinsonove bolesti 14

5.3. Inducirani model shizofrenije 15

6. Inducirani model tumora 15

7. Zaključak 17

8. Literatura 18

9. Sažetak 27

10. Summary 28

1.Uvod

Prvi pisani trag o korištenju životinja u stjecanju znanja datira još u vrijeme Stare Grčke, a od 18. stoljeća razvoj medicine ovisi o eksperimentiranju na životinjama. U 19. stoljeću istraživanja na životinjama postaju još brojnija, a povećava se i broj korištenih vrsta u eksperimentima. One postaju neophodne u razvoju biomedicinskih znanosti (farmakologije, toksikologije, virologije, imunologije itd.), a odigrale su važnu ulogu i u otkriću metoda anestezije. Danas se laboratorijske životinje najčešće koriste u biomedicinskim istraživanjima i testiranju sigunosti raznih proizvoda, a nešto manje u edukaciji (Erhardt 2012).

Za gotovo svaku poznatu bolest u ljudi znanstvenici nastoje inducirati bolest sličnih karakteristika u životinja kako bi dobili „model“ te bolesti. U području istraživanja bolesti životinje se koriste kako bi se otkrile mogućnosti liječenja određenih stanja ili s ciljem utvrđivanja toksičnosti kemijskih spojeva (Greek i Shanks 2009). Na životinjskim modelima istražuju se neurološke, infektivne, digestivne, genetske, kronične i bolesti vezivnog tkiva. U svrhu dobivanja takvih modela životinje se podvrgavaju raznim invazivnim metodoma koje obuhvaćaju operacije, traumatske ozljede, opekline, prisilno ili nedovoljno hranjenje, onemogućavanje socijalne interakcije, vađenje krvi, biopsije, promjene njihovog okoliša, virusne i bakterijske infekcije te izlaganje toksičnim lijekovima i kemikalijama (Pippin 2009). Istraživanja su dokazala da bolesti izazvane u životinja često ne oponašaju vjerno stanje u ljudi. To proizlazi kao posljedica genetskih, metaboličkih, anatomskih i staničnih razlika među organizamima (Gawrylewski 2007).

S obzirom na brojne prednosti, u znanstvenim istraživanjima se najčešće koriste glodavci: miš (lat. *Mus musculus*), štakor (lat. *Rattus norvegicus*), zamorci i zečevi. Ekonomski su pristupačni, lako se održavaju, mali su, mogu se uzgajati u velikom broju, poslušni su i javnost je navikla na njihov uzgoj u laboratorijima (Turner 2001). Veće životinje poput pasa, mačaka i primata se isto ponekad koriste jer, zbog svoje veličine i sličnosti s čovjekom u nekim aspektima, omogućuju istraživanja pojava koje se nebi mogle proučavati na glodavcima (www.merckvetmanual.com).

Postoje brojni propisi i zakoni kojima se nastoje regulirati ekperimentalni postupci na laboratorijskim životinjama. S ciljem smanjenja broja životinja korištenih u pokusima, Russell i Burch su predstavili tri R model prema kojemu je važna zamjena laboratorijskih životinja s neanimalnim (alternativnim) modelima (engl. *Replacement*), smanjenje broja

životinja u istraživanjima (engl. *Reduction*) te pružanje najbolje moguće njege onima koje će se ipak koristiti u eksperimentalnim postupcima (engl. *Refinement*). Četvrto R naknadno je dodao Ronald Bank, a ono govori o odgovornosti (engl. *Responsibility*) (Chatzigeorgiou i sur. 2009).

2. Inducirani model dijabetesa

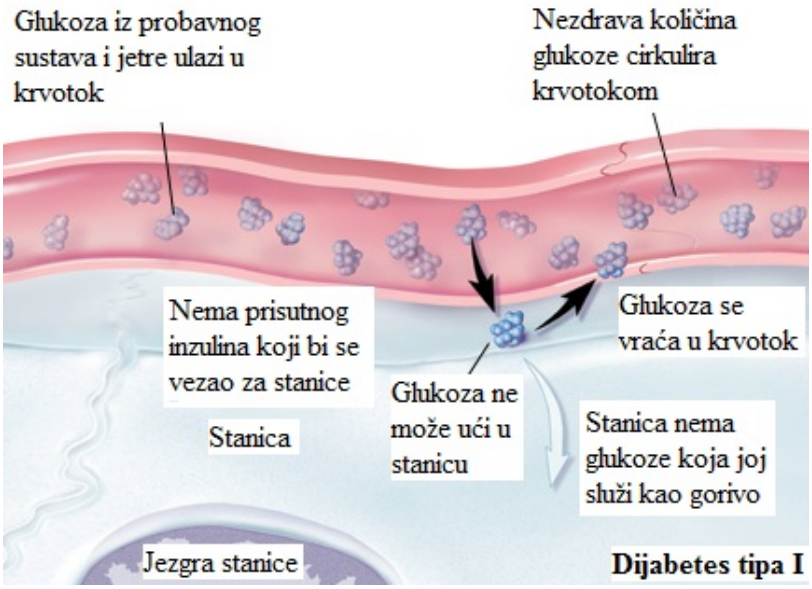
Dijabetes (lat. *Diabetes mellitus*) je kronična bolest metabolizma u životinja i ljudi obilježena relativnim ili apsolutnim nedostatkom inzulina koja u konačnici rezultira hiperglikemijom. Kronična hiperglikemija može dovesti do brojnih komplikacija u organizmu. Uz nju se vežu pojava neuropatije, nefropatije, retinopatije, kao i razne kardiovaskularne bolesti. Postoje dva osnovna tipa dijabetesa: dijabetes mellitus tipa I i dijabetes mellitus tipa II (King 2012). Oba oblika su višefaktorske bolesti koje nastaju kao posljedica kompleksne međureakcije genetskih i okolišnih čimbenika (Ikegami i sur. 2004). Tip I dijabetesa predstavlja oko 10 % svih slučajeva dijabetesa mellitusa, a razvija se sekundarno kao posljedica autoimunog uništenja β-stanica gušterače odgovornih za proizvodnju inzulina. Nastanak simptoma povezuje se s najmanje dvadeset gena MHC sustava (engl. major histocompatibility complex) od kojih su poznatiji HLA-DQ i DR te s genima CTLA-4, INS (engl. *Insulingene promoter region*), LYP/PEP tirozin fosfatazom, i vjerovatno s IL-2 i CD25 koji nisu dio navedenog sustava (Chatzigeorgiou i sur. 2009). Za dijabetes tipa II, koji čini oko 90 % slučajeva u svijetu, karakteristična je pojava rezistencije stanica jetre i perifernih tkiva na inzulin te smanjenje funkcije gušterače, a simptomi bolesti se mogu regulirati promjenom načina života, terapijom oralnim pripravcima i inzulinom (Cefalu 2015, Srinivasan i Ramarao 2007). Osim genetske predispozicije rizik od razvoja bolesti povećava se sa starošću, kardiovaskularnim bolestima, nedostatkom fizičke aktivnosti te se proporcionalno povećava s indeksom tjelesne mase (Srinivasan i Ramarao 2007). Godine 2008. zabilježeno je 347 milijuna oboljelih od dijabetesa diljem svijeta (Danaei i sur. 2011).

Animalni modeli se široko primjenjuju u istraživanjima dijabetesa. Oni znanstvenicima omogućuju kontrolu genetskih i okolišnih čimbenika *in vivo*, koji su mogli dovesti do razvoja bolesti, te dobivanje novih saznanja koja se mogu primjeniti u terapiji kod ljudi. Postoji nekoliko načina indukcije dijabetesa u životinja, a oni se s obzirom na dobivanje željenih rezultata razlikuju. U ranim istraživanjima primjenjivala se pankreatektomija na

psima (Minkowski 1880-ih i te Banting i Best 1920-ih godina), međutim danas, iako su i drugi animalni modeli još uvijek zastupljeni, većina ispitivanja provodi se na glodavcima (Chatzigeorgiou i sur. 2009). Kod animalnih modela dijabetesa mellitusa stanje hiperglikemije izaziva se kirurškim postupcima parcijalnog ili potpunog odstranjivanja gušterače ili nekirurškim postupcima oštećivanja gušterače, injiciranjem raznih kemijskih dijabetogenih spojeva od kojih su najpoznatiji aloksan, streptozotocin, vakor, ditizon i 8-hidroksikvinolon. S druge strane, ukoliko su za istraživanja potrebni modeli glikozurije, primjenjuje se florizin (Rees i Alcolado 2004). Kod dijabetesa tipa I poznati su i slučajevi indukcije pomoću virusa, dok se dijabetes tipa II u životinja njačešće inducira opterećenjem organizma glukozom i masnim kiselinama (King 2012).

2.1. Inducirani model dijabetesa melitusa tipa I

Glavna karakteristika dijabetesa tipa I jest autoimuno razaranje β-stanica gušterače koja vodi do nedovoljne proizvodnje inzulina u organizmu (Slika 1). U životinjskih modela taj se nedostatak u proizvodnji inzulina postiže raznim mehanizmima, od obrade zdravih životinja kemijskim tvarima do kirurških postupaka i indukcije virusima (King 2012).



Slika 1. Mehanizam djelovanja dijabetesa tipa I

(Prilagođeno prema www.connecttoresearch.org)

Kod kemijski induciranog dijabetesa mellitusa tipa I dolazi do razaranja velikog postotka β - stanica zbog čega se luče male količine endogenog inzulina što posljedično dovodi do hiperglikemije i gubitka težine. Ovaj je oblik indukcije jednostavan i relativno jeftin (Dufrane i sur. 2006, King 2012). Dijabetes je najčešće induciran 5-7 dana prije početka istraživanja kako bi se osigurala stabilna hiperglikemija (King 2012). Poznate su brojne tvari koje mogu dovesti do razvoja simptoma bolesti, a najčešće se za indukciju hiperglikemije u miševa i štakora primjenjuju streptozotocin i aloksan, toksični analozi glukoze koji se akumuliraju u β-stanicama, a tamo dospijevaju putem Glut-2 transportera glukoze (Lenzen 2008). Količina dozirane tvari ovisi o vrsti i veličini životinje te mjestu iniciranja (Frederiuk i sur. 2004, Etuk 2010). Nedostatak ovih modela očituje se u toksičnom djelovanju dijabetogenih tvari na druge organe u tijelu (King 2012).

Streptozotocin (2 – deoksi – 2 - (3 - (metil – 3 – nitrozoureid) - D - glukopiranoza) je toksin koji sintetizira gljivica *Streptomycetes achromogenes.* Nakon intraperitonealne ili intravenozne administracije ulazi u β-stanice gušterače putem Glut-2 transportera i uzrokuje alkilaciju DNA (Szkudelski 2001). Aktivacija PARP-a dovodi do trošenja NAD+ , smanjenja staničnog ATP-a i inhibicije biosinteze i lučenja inzulina (Sandler i Swenne, 1983). Streptozotocin je također i izvor slobodnih radikala koji mogu doprinijeti oštećenju DNA i u konačnici dovesti do stanične smrti. Primjenjuje se ili jednokratno u većoj količini ili višekratno u manjim dozama (King 2012).

Dijabetogeni učinak aloksana (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksiuracil) očituje se u ubrzanju primanja β-stanica te proizvodnji slobodnih radikala za koje β-stanice imaju slabe obrambene mehanizme (Nerup i sur. 1994). Aloksan se reducira u dijaluričnu kiselinu, a zatim ponovno oksidira u aloksan stvarajući pritom redoks ciklus u kojem se formiraju superoksidni radikali. Potom nastaje hidrogen peroksid, a s njime i hidroksi-radikali koji su odgovorni za fragmentaciju DNA β-stanica (King 2012). Aloksan primaju i stanice jetre, ali one imaju bolju zaštitu na reaktivne radikale kisika pa jetra nije toliko podložna oštećenju (Malaisse i sur. 1982; Mathews i Leiter 1999). Drugi mehanizmi inducirani aloksanom uključuju oksidaciju esencijalnih –SH skupina, posebno glukokinaze i smetnje u unutarstaničnoj homeostazi kalcija (Kim i sur. 1994).

Neki znanstvenici koriste kirurške metode potpunog odstranjivanja gušterače na štakorima, svinjama, psima i primatima (Choi i sur. 2004; Rees i Alcolado 2005; Masiello 2006), a u novije se vrijeme primjenjuje i parcijalna pankreatektomija. Međutim, za

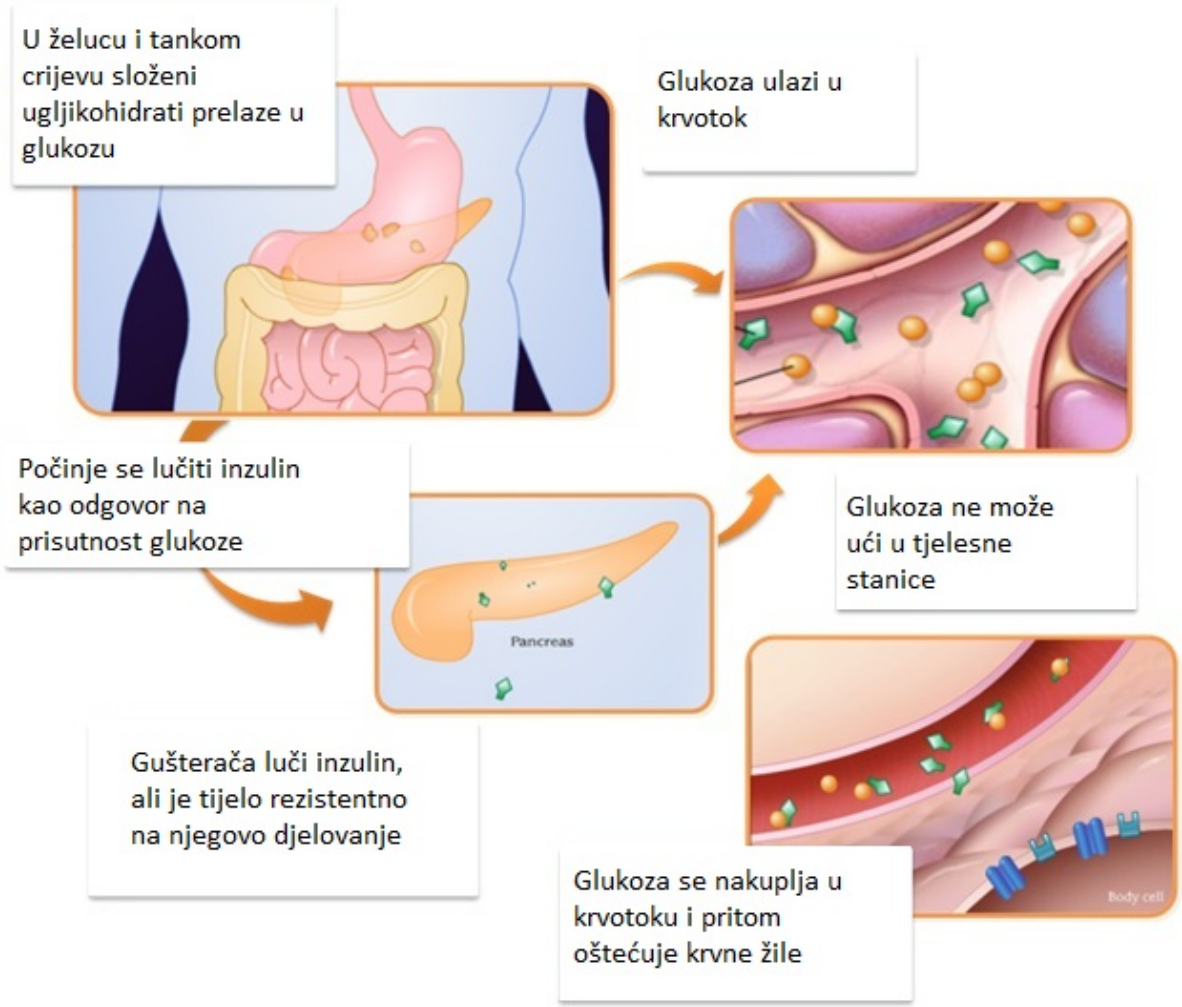
postizanje umjerene hiperglikemije potrebno je odstraniti veći dio gušterače, a on kod štakora iznosi preko 80% (Masiello 2006). Iako pouzdana, za dobivanje modela hiperglikemije, ova tehnika ima svojih nedostataka: zahtjeva dobro poznavanje tehnički zahtjevnih kirurških postupaka, adekvatno kirurško okruženje, postoperativnu primjenu analgetika i antibiotika, suplementaciju enzimima gušterače te povećava rizik od infekcije životinja. (Etuk 2010).

Neki virusi su uključeni u patogenezu dijabetesa tipa I. Njihovo se djelovanje očituje ili izravnim uništenjem β-stanica ili iniciranjem autoimunog odgovora protiv istih (Jun i Yoon 2003). Virusi korišteni u indukciji dijabetesa su koksaki B virus (Yoon i sur. 1986; Kang i sur 1994; Jaidane i sur. 2009), virus encefalomiokarditisa (Craighead i McLane 1968; Baek i Yoon 1991; Shimada i Maruyama 2004) i Kilham virus štakora (Guberski i sur. 1991; Ellerman i sur. 1996). Iako je dokazano da su neki slučajevi dijabetesa u ljudi povezani s virusima nije poznato koji je njihov značaj u patogenezi bolesti (King 2012).

2.2. Inducirani model dijabetesa mellitusa tipa II

Dijabetes tipa II karakteriziran je rezistencijom na inzulin i nemogućnošću β-stanica da učinkovito nadoknade taj nedostatak. Prema tome animalni modeli za dijabetes tipa II uključuju modele rezistencije na inzulin i modele s oslabljenom funkcijom β-stanica. Mnogi modeli temelje se na pretilosti zbog korelacije s stanjem kod ljudi koji boluju od ovog oblika bolesti (King 2012) (Slika 2).

Prehrana s povećanim udjelom lipida (oko 58% energije dobiva se iz masti) može dovesti do pretilosti, hiperinzulinemije i promjene u homeostazi glukoze, a takvo je stanje popraćeno nemogućnošću uspostavljanja homeostaze od strane stanica gušterače (Winzell i Ahren, 2004). Najrasprostranjeniji takav model, otkriven 1960-ih, je pustinjski štakor (lat. *Psammomys obesus*) kod kojeg dolazi do pretilosti uslijed prijelaza s njegove prirodne vegetarijanske prehrane na laboratorijsku visokoenergetsku (Ziv i sur. 1999). Osim pustinjskog štakora važni modeli su i pustinjski ježasti miš (lat. *Acomys calirimus*) i C57BL/6J miš (King 2012).



Slika 2. Mehanizam djelovanja dijabetesa tipa II

(Prilagođeno prema mytropicanaslim.wordpress.com)

Iako se dijabetogeni spojevi većinom koriste za indukciju dijabetesa tipa I, oni se mogu primjenjivati i prilikom indukcije tipa II. Primjena streptozotocina u štakora uzrokuje dijabetes tipa II s učestalošću od 78-80% (Masiello i sur. 1998), dok se neonatalna ili poslijeporođajna injekcija streptozotocina ili aloksana koristi se za indukciju bolesti u odraslih životinja (Portha i sur. 1974; Weir i sur. 1981).

Parcijalno odstranjivanje gušterače uobičajeno je za brojne animalne modele dijabetesa (štakori, psi, svinje). U većine se razvije umjerena hiperglikemija bez značajnih promjena tjelesne težine ili količine inzulina u krvi. Zato se danas pankratektomija često kombinira s injektiranjem dijabetogenih supstanci ne bi li se dobili odgovarajući rezultati (npr. kod mačaka). U skladu s sposobnošću regeneracije gušterače u ljudi i životinja, ovakvi

su modeli namijenjeni istraživanjima transplantacija i regenerativnih čimbenika (Bonner-Weir i sur. 1983; Risbud i Bhonde 2002; Srinivasan i Ramarao 2007).

2. Inducirani model osteoporoze

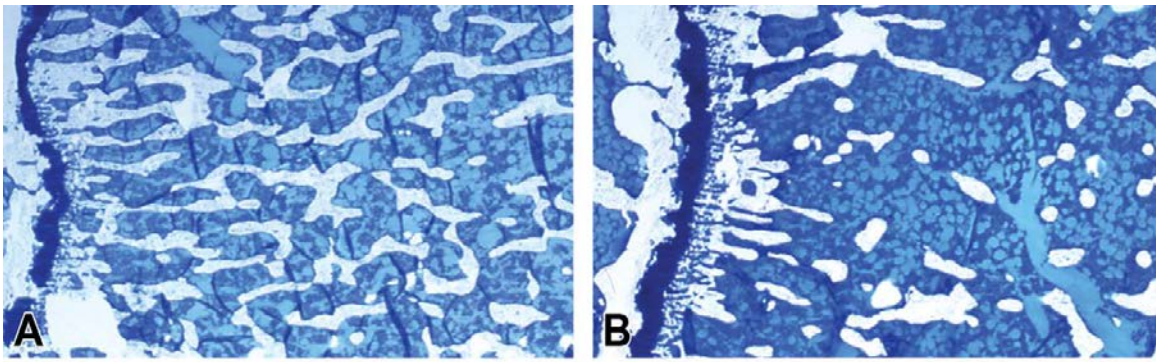
Osteoporoza je jedna od najčešćih kroničnih bolesti karakterizirana smanjenjem koštane mase i promjenama u mikroarhitekturi koštanog tkiva koja dovodi do postupne redukcije jačine skeleta, a u konačnici i do lomova (Bonucci i Ballanti 2013; Atmaca i sur. 2013). Poremećaj može biti lokaliziran ili može zahvaćati cjelokupni kostur. U Europskoj uniji osteoporoza je vodeći uzrok smrtnosti starije populacije te ključni čimbenik skupe medicinske skrbi (Lelovas i sur. 2008).

Napredovanje bolesti je vrlo sporo te je potrebno razdoblje progresije od nekoliko godina kako bi se mogla početi primjenjivati odgovarajuća terapija. Čimbenici koji povećavaju rizik od obolijevanja u ljudi jesu način života, pušenje, alkoholizam i prehrana (Heaney 1996; Seeman 1996), a važnu ulogu imaju i genetička predispozicija te hormonalne promjene (Walker-Bone i sur. 2002; Dennison i sur. 2005). Zbog brojnih čimbenika koji mogu utjecati na istraživanje vrlo je otežano kreiranje homogene skupine za istraživanje, a dobiveni rezultati mogu jako varirati. Stoga istraživanja na animalnim modelima, zbog njihove uniformnosti, odstranjuju ograničenja na koja se nailazi prilikom istraživanjima bolesti kod ljudi (Lelovas i sur. 2008).

Iako su brojni uzroci osteoporoze otkriveni, neki su još uvijek nepoznati, uključujući mehanizme homeostaze kalcija izvanstaničnih prostora i njegov utjecaj na koštanu fiziologiju i razvoj bolesti (Talmage i Talmage 2007). Trenutna istraživanja novih terapijskih mogućnosti usmjerena su na osteolitičke enzime osteoklasta, mehanizme odgovorne za aktivaciju stanica koje sudjeluju u izgradnji i one koji kontroliraju apoptozu (Stoch i Wagner 2008; Taketa i sur. 2008). Laboratorijske životinje korištene u istraživanjima osteoporoze uključuju glodavce, zečeve, pse i primate. Svaka od ovih skupina ima svojih prednosti i nedostataka, a najpogodnijim među njima smatra se štakor (Lelovas 2008). Zbog brojnih odlika ovce se nameću kao novi obećavajući model za istraživanje fenomena vezanih uz promjene unutar skeleta. One su poslušne, lake za rukovanje i održavanje, uz to su relativno jeftine, dostupne u velikim brojevima, spontano ovuliraju, a kosti su im dovoljno velike za procjene ortopedskih implantanata. Većina animalnih modela jesu ženke vrsta, dok je osteoporoza u mužjaka uvelike zanemarena (Turner 2001).

Osteoporoza se u zdravih životinja može inducirati na brojne načine koji se mogu podijeliti na manipulacije hormonalnog djelovanja, promjene vezane uz prehranu te promjene u razini pokretljivosti organizma. Dobivanje bržih rezultata uvjetuje kombinacija ovarijektomije s još nekom od inducibilnih metoda. Za promjene u razinama pojedinih hormona, uz ovarijektomiju, primjenjuju se agonist gonadotropin otpuštajućeg hormona, antagonist estrogenskih receptora, inhibitori aromataze i glukokortikoidi (Lelovas i sur. 2008). Određena prehrana također može pomoći u razvoju bolesti, a najpoznatija je ona s niskim unosom kalcija ili prekomjernom konzumacijom alkohola ili retinoične kiseline. Indukciji osteoporoze može doprinijeti i prehranom izazvano stanje acidoze u organizmu (engl. *Dietary induced metabolic acidosis*, DIMA) (Turner 2001), a inducibilni učinak ima i imobilizacija životinje. Postoji nekoliko različitih načina imobilizacije kao što su vezanje i odstranjivanje udova ili kirurška manipulacija na živcima, tetivama ili kralješnici (Lelovas i sur. 2008).

Za istraživanje postmenopauzalne osteoporoze najzastupljenija je metoda ovarijektomije (Atmaca i sur. 2013) (Slika 3). Model ovarijektomije se u brojnim aspektima poklapa s razvojem postmenopauzale osteoporoze u žena. Odmah nakon odstranjivanja jajnika u animalnih modela razgradnja koštanog tkiva premašuje izgradnju. Ovaj model temelji se na poremećaju u prirodnim razinama hormona, prije svega estrogena koji je neophodan za pravilnu izgradnju koštanog tkiva (Lelovas i sur. 2008).



Slika 3. Trabekularna kost štakora: gubitak kosti u ovarijektomizirane životinje (A) i normalno koštano tkivo kontrolne životinje (B)

(Bonucci i Ballanti 2013)

Glukokortikoidi su lijekovi koji pripadaju razredu steroidnih hormona, a proizvodi ih kora nadbubrežne žlijezde. Imaju važnu funkciju u metabolizmu ugljikohidrata, proteina i masti (perpetuum-lab.com.hr). Koriste se u liječenju autoimunih, plućnih i gastrointestinalnih bolesti, neoplazmi ili nakon transplantacijskih postupaka. Zbog tako široke primjene, kronična terapija bolesnika glukokortikoidima je najčešći uzrok lijekovima uzrokovane osteoporoze. Glukokortikoidi povećavaju koštanu resorpciju i smanjuju stvaranje kosti. Oni inhibiraju intestinalnu resorpciju kalcija i povećavaju renalnu ekskreciju, smanjuju sekreciju gonadotropin otpuštajućeg hormona i gonadalno oslobađanje testosterona i estrogena čiji manjak utječe na gubitak kosti. Više zahvaćaju spužvastu nego kortikalnu kost, pogotovo koštano tkivo kralješaka i kukova (Ćurković 2007).

Agonist gonadotropin otpuštajućeg hormona (GnRH agonist) je spoj koji smanjuje koncentracije gonadotropina (GnRH) i inhibira funkciju jajnika čime se gustoća koštane mase, posebno u predjelu kralježnice, smanjuje na količinu karakterističnu za postmenopauzalnu dob (Roux i sur. 1995). Isto kao i GnRH agonist, inhibitori aromataze su lijekovi koji smanjuju razine estrogena u organizmu. Poznati su u liječenju postmenopauzalnih tumora (www.medicinenet.com).

3. Inducirani model upalnih bolesti crijeva

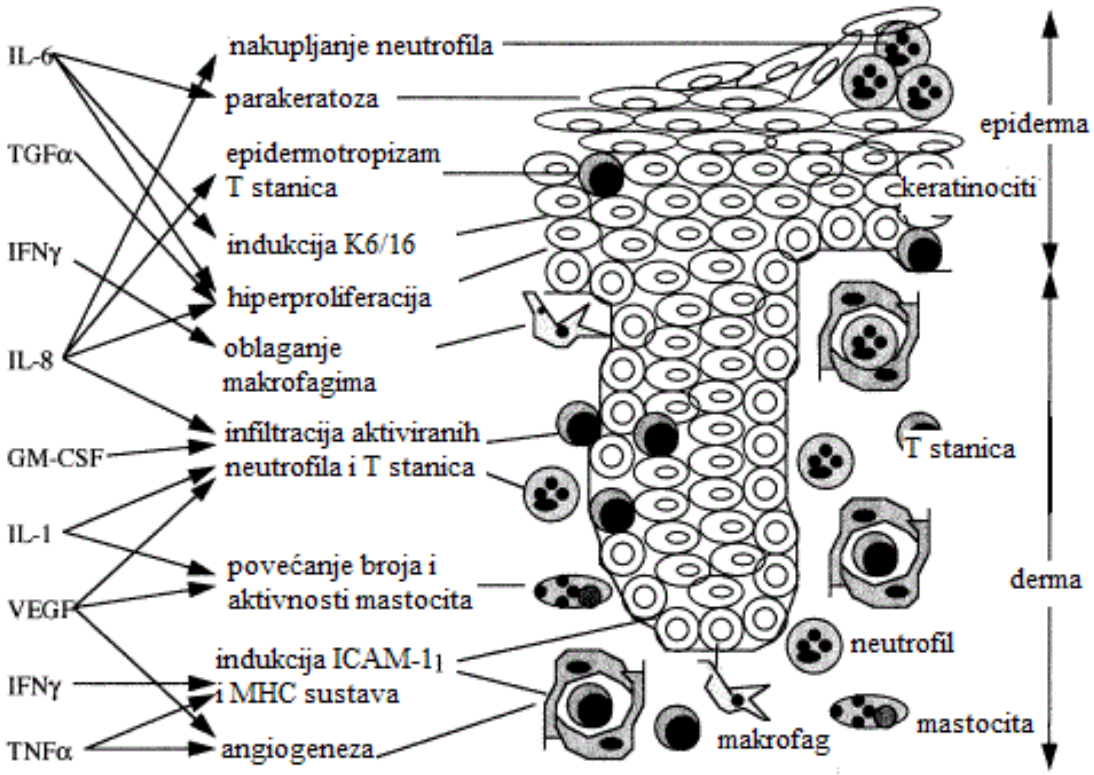
Crohnova bolest (engl. *Crohn´s disease*, CD) i ulcerozni kolitis (engl. *Ulcerous colitis*, UC) su kronične upalne bolesti gastrointestinalnog trakta. Simptomi upalnih bolesti crijeva (engl. *Inflammatory bowel disease*, IBD) uključuju dijareju, bol u trbuhu i groznicu. Tijek bolesti obilježen je razdobljima blage upale bez potrebe primjene terapije koja se izmjenjuju s razdobljima aktivne upale u kojima je neophodno liječenje imunosupresivima, česta hospitalizacija, a ponekad i operacija. Prisustvo stranih antigena aktivira stanice urođenog imunološkog sustava: NK stanice (engl. *Natural killer cells*), mastocite, neutrofile, makrofage i dendritične stanice što dovodi do upale zbog stimulacije adaptivne imunosti većinom putem T stanica (Slika 4). Kod Crohnove bolesti upala je posredovana odgovorom Th-1 (engl. *T helper-cell type 1*) stanica koje induciraju interleukini, IL-12, IL-18, te karakterizirana pojačanom ekspresijom upalnih citokina IFN-γ, IL-2 i faktora nekroze tumora, TFN-α koji stimulira otpuštanje drugih upalnih citokina kao što su IL-1, 1L-6, IL-8, IL-12 i IL-18. S druge strane, ulcerozni kolitis je potaknut Th-2 imunosnim odgovorom koji uzrokuje otpuštanje TGF-β (engl. *Transforming growth factor* β) i IL-5 (Waldner i Neurath 2009).

Iako animalni modeli ne prikazuju vjerno kompleksnost upalnih bolesti crijeva u ljudi, istraživanja na laboratorijskim životinjama uvelike su doprinijela razumijevanju patofizioloških mehanizama u ranim stadijima kolitisa, kao i učinak novootkrivenih terapija (Wirtz i Neurath 2007). Poznat je veći broj iritanata kojima se može inducirati upala gastrointestinalnog trakta, a neki od njih su: octena kiselina (engl. *Acetic acid*, AA), jodoacetamid, indometacin, trinitrobenzensulfonska kiselina (TNBS), oksazolon, natrij dekstran sulfat (DDS) i peptoglikan polisaharid (PG-PS) (Jurjus i sur. 2004).

Odgovarajuće doze octene kiseline mogu inducirati nekrozu sluznice crijeva i prolaznu upalu. U većini provedenih istraživanja korištena je 4-5 % - tna octena kiselina jer više koncentracije uzrokuju česte perforacije crijeva. Model indukcije jodoacetamidom se temelji na spoznaji da endogeni sulfhidril spojevi (SH), poput glutationa, imaju važnu ulogu u zaštiti crijevne sluznice. Primjenom SH blokatora dolazi do oštećenja sluznice i kolitisa. Indometacin uzrokuje manja oštećenja tankog i debelog crijeva kod glodavaca. Prije primjene se otopi u 100%-tnom alkoholu, nakon čega se razrijedi sodom bikarbonom ili metilcelulozom te stavi u hranu životinja. TNBS može inducirati kronični kolitis u miševa nakon oštećenja sluzničke barijere etanolom. Za ovaj model uobičajena je pojava granuloma u crijevu. Makrofagi proizvode velike količine IL-12, a limfociti IFN-γ i IL-2 što indicira da je ovaj model potaknut Th tip-1 odgovorom karakterističnim za CD. Kao i kod modela trinitrobenzensulfonske kiseline, oksazolon se primjenjuje u kombinaciji s etanolom, a utvrđeno je da on brže razvije kolitis od TNBS modela. DSS u miševa i štakora uzrokuje hematoheziju, gubitak tjelesne težine, skraćivanje crijeva, čireve na crijevima i infiltraciju neutrofila. Dokazano je da iniciranje sastavnih komponenti bakterijske stijenke, PG-PS, u distalni dio kolona štakora uzrokuje transmuralni enterokolitis. PG-PS uzokuje zadebljanje stijenke debelog crijeva, pojačava propusnost sluznice, infiltraciju limfocita, makrofaga i neutrofila, povećava aktivnost mijeloperoksidaza (engl. *Myeloperoxidase*, MPO), proizvodnju dušikovog oksida (engl. *Nitric oxide*, NO) i sintezu kolagena (Jurjus i sur. 2004).

4. Inducirani model psorijaze

Psorijaza je najčešća autoimuna bolest. To je kronična kožna nezarazna upalna bolest karakterizirana pojavom bolnih plakova, svrbežom, crvenilom i zadebljanjem kože (www.medicinenet.com). U podlozi bolesti je složena međureakcija stanica kože, imunosnog sustava (T stanica), dendritičnih stanica i upalnih citokina (Danilenko 2005; Conrad i Nestle 2006). Istraživanjima je dokazano posredovanje brojnih citokina u razvoju psorijaze: citokini TNF-α (engl. *tumor necrosis factor*) i interleukin-1 (IL-1), interferon-γ (IFN-γ), IL-6, IL-8, krvožilni endotelni čimbenik rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) te transformirajući čimbenik rasta – α (engl. *transforming growth factor*, TGF – α). Pritom su IL-6 i TGF-α zaslužni za pojačanu proliferaciju keratinocita, a IL-1, TGF-α, TNF-α i VEGF uzrokuju angiogenezu krvnih žila (Schön 1999). IL-1, IFN-γ i TNF-α potiču ekspresiju ICAM-1 i MHC sustava (Slika 4). U različitim populacijama učestalost javljanja bolesti varira između 0,1 % i 11,8 % (Raychaudhuri i Farber 2001), a varira i geografski. Broj oboljelih povećava se od ekvatora prema polovima (Kormeili i sur. 2004). Oko 25 milijuna ljudi Sjeverne Amerike i Europe boluje od psorijaze (Lowes i sur. 2007).



Slika 4. Patogeneza psorijaze (Prilagođeno prema Schön 1999)

Iako bi indukcija psorijaze u eksperimentalnih životinja bila od velikog značaja za proučavanje molekularnih mehanizama u osnovi ove bolesti i razvoj lijekova, animalni model koji vjerno oponaša kompleksnost stanja kod ljudi još uvijek nije dostupan (Boehncke i Schön 2007). S ciljem indukcije kožnih promjena u animalnih modela mogu se primjeniti dekanol, bromheksan, propionaldehid, di-n-propil disulfid, heksil salicilat i heptaldehid (Škurić i sur. 2011). Topička primjena TLR7 i TLR8 agonista imikvimoda (engl. *Imiquimod*, IMQ) učinkovita je u pokretanju upalnih reakcija u koži miša i čovjeka. Imikvimodom inducirana psorijaza dobro oponaša fenotipske i histološke karakteristike psorijaze u ljudi. Imikvimod uzrokuje epidermalne promjene koje obuhvaćaju proliferaciju keratinocita i promjene u diferencijaciji, povećanje T stanica i neutrofila te promjenu u cirkulaciji (www.mdbiosciences.com). Psorijatične promjene inducirane imikvimodom ovisne su o prisutnosti IL-23 i IL-17, te ne mogu nastati u miševa s manjkom ovih receptora (Fits i sur. 2009).

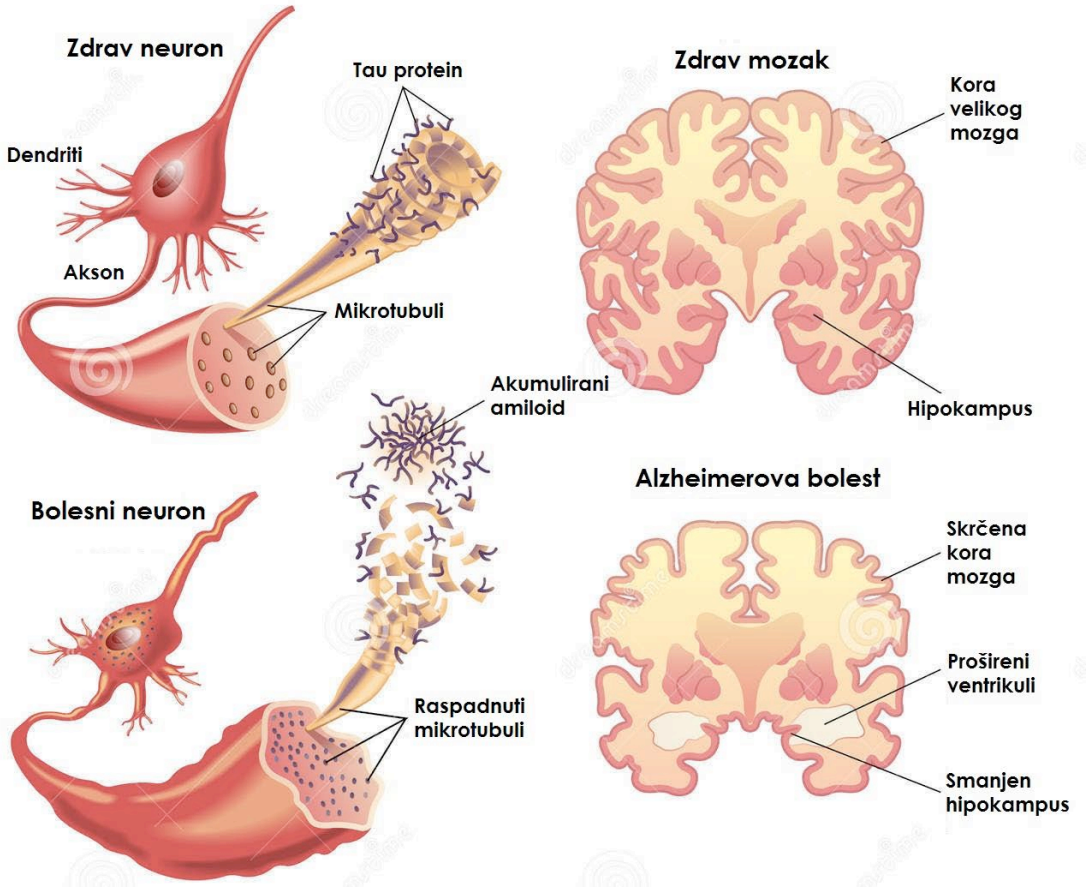
5. Inducirani model bolesti centralnog živčanog sustava

Središnji živčani sustav (engl. *Central nervous system*, CNS) je dio živčanog sustava koji obuhvaća mozak i leđnu moždinu. Bolesti CNS-a predstavljaju široku kategoriju stanja u kojima mozak ne funkcionira kako bi trebao. Stanje može biti naslijeđeno, rezultat ozljede ili infekcije, posljedica moždanog udara ili tumora (www.neuromodulation.com). Animalni modeli koji oponašaju neke patofiziološke i bihevioralne karakteristike humanih poremećaja mogu se koristiti u razvoju novih lijekova, proučavanju toksičnosti spojeva i proučavanju funkcije gena (www.qps-austria.com).

5.1. Inducirani model Alzheimerove bolesti

Alzheimerova bolest (engl. *Alzheimer´s disease*, AD) je jedna od najrazornijih neurodegenerativnih bolesti koja je obilježena dvjema tipičnim pojavama: izvanstaničnom akumulacijom amiloid-β-peptida i unutarstaničnim nakupljanjem hiperfosforiliranog proteina tau (Slika 5). Može se inducirati skopolaminom, antagonistom acetilkolina koji uzrokuje amneziju i slabljenje funkcije pamćenja. Sustavna primjena u miševa slabi njihove rezultate na testovima pamćenja kao što su prepoznavanje objekata, radijalni labirint, vodeni labirint te

kondicioniranje straha. Skopolaminom izazvano kognitivno pogoršanje može se popraviti pomoću inhibitora kolinesteraze čime je ovaj model pogodan za oponašanje kognitivne disfunkcije, demencije i Alzheimerove bolesti (von Linstow i sur. 2007; Deiana i sur. 2009;). Iniciranje β-amiloida u hipokampus štakora daje pouzdane modele neurodegeneracije. Aβ1-40 i Aβ1-42 induciraju degeneraciju neurona CA1 područja hipokampusa te dovode do bihevioralnih, neurokemijskih i imunohistokemijskih promjena koje su značajne za Alzheimerovu bolest (Kowall i sur. 1992; Miguel-Hidalgo i sur. 1998). Tau hiperfosforilacija može se izazvati u miša indukcijom hipotermije intraperitonealnom administracijom pentobarbitala (www.qps-austria.com).

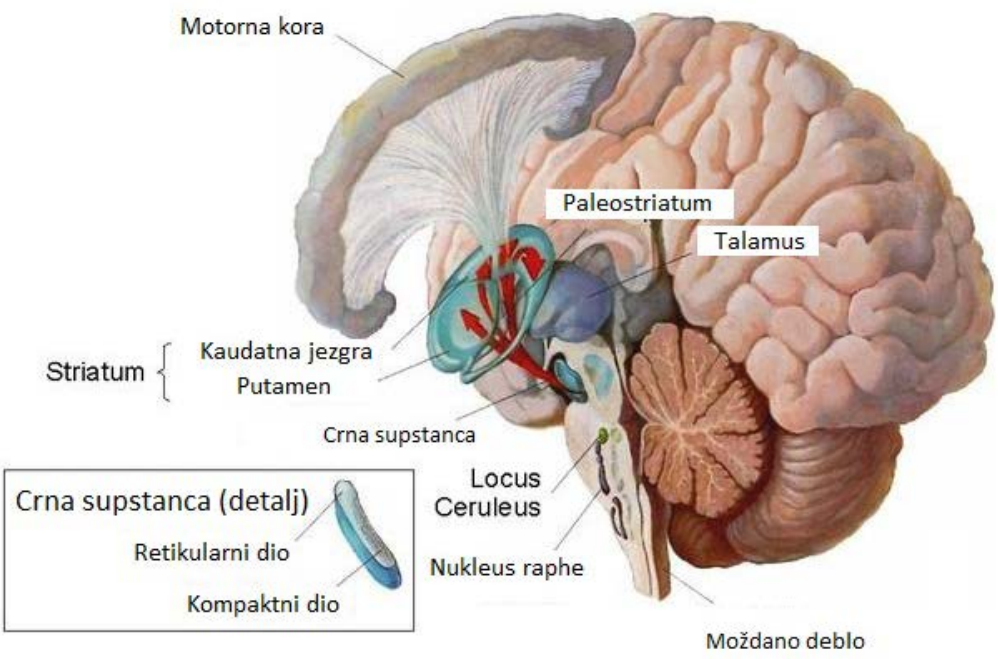


Slika 5. Usporedba mozga zdrave osobe i osobe oboljele od Alzheimerove bolesti.

(Prilagođeno prema www.naturalhealthcommunity.org)

5.2. Inducirani model Parkinsonove bolesti

Parkinsonova bolest je sporoprogresivni neurodegenerativni poremećaj središnjeg živčanog sustava koji se očituje sporošću pokreta, ukočenošću mišića, drhtanjem tijela i nestabilnošću (www.msd-prirucnici.placebo.hr). Miševi koji prime toksin MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahiropiridin) selektivno gube značajne količine dopaminergičkih neurona dvaju dijelova srednjeg mozga, crne supstance (engl. *supstancia nigra*, SN) i ventralnog tegmentalnog područja (engl. ventral tegmental area, VTA) (Slika 6). Gubitak dopaminskih stanica u SN-u oponaša kliničko stanje Parkinsonove bolesti i vodi motoričkoj nefunkcionalnosti (www.qps-austria.com). Lokalna primjena neurotoksina, 6-hidroksidopamina (6-OHDA) je dobro utemeljen model za izučavanje gubitka dopaminergičkih neurona crne supstance (Grealish i sur. 2010).



Slika 6. Regije mozga zahvaćene Parkinsonovom bolešću.

(Prilagođeno prema www.soc.ucsb.edu)

5.3. Inducirani model shizofrenije

Shizofrenija je teški mentalni poremećaj koji zahvaća oko 1% ljudske populacije (Green i sur. 2000). Antagonisti NMDA receptora, kao što su ketamin i MK-801, uzrokuju pozitivne i negativne simptome, kao i kognitivne nedostatke karakteristične za shizofreniju. MK-801 narušava funkciju učenja i pamćenja. Također utječe na ponašanje glodavaca narušavajući senzoričku funkciju, hipermotilnost te izaziva ataksiju. Simpomi shizofrenije mogu se inducirati i obradom štakora dopamin otpuštajućim lijekom, d-amfetaminom u kombinaciji s benzodiazepinom ili fenciklidinom (engl. *phencyclidine*, PCP) (www.qps-austria.com).

6. Inducirani model tumora

Rak nastaje kao posljedica poremećene stanične diobe što uzrokuje abnormalnu proliferaciju i rast tvorevina koje se nazivaju tumorima. Tumor ima monoklonsko podrijetlo. Nastaje od jedne normalne stanice koja ponovno ulazi u stanični ciklus te diobama stvara milijune promijenjenih stanica od kojih je građen tumor. Tumorske su stanice besmrtne i mogu se beskonačno dijeliti u kulturi. One najčešće nastaju mutacijama te se rak formira kao posljedica abnormalne ekspresije dvije vrste gena, proto-onkogena i tumor-supresorskih gena. Proto-onkogeni kontroliraju stanični rast i diferencijaciju (tirozinske kinaze, faktori rasta, GTP-vezujući proteini, DNA-vezujući proteini), a imaju ih svi kralješnjaci. Mogu ih aktivirati zračenja, kemijske tvari i virusi (v-onc). Tumor supresorski geni ili anti-onkogeni suprimiraju rast malignih stanica. U slučaju gubitka ili mutacije oni remete staničnu diobu. Prvi izolirani tumor supresorski gen bio je gen za retinoblastom, a najpoznatiji je p53 koji se nalazi na kromosomu 17 čija je zadaća očuvanje normalnog rasta i diobe. Njegova mutacija uzrokuje rast približno 50% svih tumora. Neke mutacije proto-onkogena i tumor-supresorskih gena su nasljedne (www.genetika.biol.pmf.unizg.hr).

Rak se u zdravih životinja može inducirati pomoću brojnih karcinogena, kemikalija, hormona, radijacijom, virusima, iniciranjem tumorskih stanica ili transplantacijama tumora. Dobri modeli za proučavanje bolesti mogu se dobiti primjenom navedenih tvari na određenim linijama ili genetički modificiranim životinjama s odgovarajućim nedostacima u staničnim putevima**.** Rak se najčešće inducira na miševima i štakorima, ali zastupljeni su i drugi modeli poput hrčaka, zečeva, zebrastih ribica i oposuma (www.emice.nci.nih.gov).

Način indukcije raka probavnog sustava u miševa policikličkim aromatskim ugljikovodicima poznat je još od 1940-ih (Rosenberg i sur. 2008). Obradom kemikalijama i hormonima može se prouzročiti rak dojke (Medina, 2000), dok se za izazivanje oralnog ili raka pluća primjenjuju karcenogene sastavnice duhana (Granville i sur. 2007). Za razliku od kemikalija koje specifično utječu na određene stanice ili organske sustave, u organizmu životinja postoje neke koje imaju višeznačne učinke. Primjerice, kadmij je odgovoran za indukciju širokog spektra malignih oboljenja (Waalkes 2003), a promjene u rastu stanica mogu se također uzrokovati arsenom i azbestnim vlaknima (Wanibuchi 2004; Kane 2006). Razni oblici radijacije mogu dovesti do raka. Ultraljubičasto zračenje značajno je u razvoju raka kože animalnih modela (Noonan i sur. 2003), dok se ionizirajuće zračenje primjenjuje u indukciji leukemije (Peng i sur. 2009).

Tumori se mogu transplantirati na originalno mjesto nastanka u organizmu (određeno tkivo) ili ektopički, najčešće subkutano, na predjelu boka ili intravenozno injekcijom. Za sprječavanje imunosnog odgovora ova se metoda često kombinira sa zračenjem ili imunosupresivnim agensima (www.bu.edu/orccommittees). Kako bi se smanjila mogućnost traume kod laboratorijskih životinja čvrsti tumori trebaju biti usitnjeni u manje komadiće. Kod miševa se preferiraju transplantacije tumora manjih od 1 mm (www.rosalindfranklin.edu).

7. Zaključak

Inducirani animalni modeli neophodni su u biomedicinskim istraživanjima. Iako brojni ne oponašaju vjerno patologiju bolesti u ljudi, danas postoje životinjski modeli za gotovo sve poznate humane bolesti. Najpovoljnijim modelima smatraju se glodavci, pogotovo miš i štakor, zbog dostupnosti velikog broja različitih sojeva, lakog održavanja i male cijene, a dobiveni rezultati u pokusima su zbog njihove kozmopolitske primjene usporedivi. Indukcija bolesti u laboratorijskih životinja vrši se na različite načine. Metode su često invazivne te uključuju razne kirurške postupke, promjene u prehrani, okolišu ili primjene toksičnih kemijskih spojeva.

8. Literatura

Atmaca H., Adem A., Resul M., 2013. Experimental model of osteoporosis: Comparison between ovariectomy and Botulinum toxin A. *Acta Ortopédica Brasileira* **21**, 340-3.

Baek H.S., Yoon J.W.,1991. Direct involvement of macrophages in destruction of beta-cells leading to development of diabetes in virus-infected mice. *Diabetes* **40**, 1586–1597.

Boehncke W.H., Schön M.P., 2007. Animal models of psoriasis. *Clinics in Dermatology* **25**, 596-605.

Bonner-Weir S., Trent D.F. and Weir G.C., 1983. Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. *The Journal of Clinical Investigation* **71**, 1544-1553.

Bonucci E., Ballanti P., 2013. Osteoporosis-Bone Remodeling and Animal Models. *Toxicologic Pathology* **0**, 1-13.

Cefalu W., 2006. Animal models of type 2 diabetes: Clinical presentation and pathophysiological relevance to the human condition. *ILAR Journal* **47**: 186-198.

Choi S.B., Park C.H., Choi M.K., Jun D.W., Park S., 2004. Improvement of insulin resistance and insulin secreation by water extracts of *Cordiceps militaris, phellinus linteus and paecilomyce tenuipes* in 90% pancreatectomized rats. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* **68**, 2257-2264.

Conrad C., Nestle F.O., 2006. Animal Models of Psoriasis and Psoriatic Artritis. *Current Reumatology Reports* **8**, 342-347.

Craighead J.E., McLane M.F., 1968. Diabetes mellitus: induction in mice by encephalomyocarditis virus. *Science* **162**, 913–914.

Ćurković B., 2007. Osteoporoza uzrokovana glukokortikoidima. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* **58**, 19-24.

Danaei G., Finucane M., Lu Y., Singh G., Cowan M., Paciorek C., 2011. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic

analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *The Lancet* **378**, 31–40.

Danilenko D.M., 2008. Preclinical Models of Psoriasis. *Veterinary Pathology* **45**, 563-575.

Deiana S., Harrington C.R., Wischik C.M., Riedel G., 2009. Methylthioninium chloride reverses cognitive deficits induced by scopolamine: comparison with rivastigmine. *Psychopharmacology* **202**, 53-65.

Dennison E, Cole Z, Cooper C., 2005. Diagnosis and epidemiology of osteoporosis. *Current Opinion in Rheumatology* **17,** 456–461.

Dufrane D., van Steenberghe M., Guiot Y., Goebbels RM., Saliez A., Gianello P., 2006. Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and beta-cell plasticity. *Transplantation* **81**, 36–45.

Ellerman K.E., Richards C.A., Guberski D.L., Shek W.R., Like A.A., 1996. Kilham rat triggers T cell-dependent autoimmune diabetes in multiple strains of rat. *Diabetes* **45**, 557–562.

Erhardt J., Uvod u znanost o laboratorijskim životinjama. *Osposobljavanje za rad s laboratorijskim životinjama*, 10-15.

Etuk, E.U., 2010. Animal models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America* **1**, 130-134.

Federiuk I.F., Casey H.M., Quinn M.J., Wood M.D., Ward W.K., 2004. Induction of type 1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan; route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comprehensive Medicine* **54**, 252-257.

Granville C.A., Warfel N., Tsurutani J., Hollander M.C., Robertson M., Fox S.D., Veenstra T.D., Issaq H.J., Linnoila R.I., Dennis P.A., 2007. Identification of a highly effective rapamycin schedule that markedly reduces the size, multiplicity, and phenotypic progression of tobacco carcinogen-induced murine lung tumors. *Clinical Cancer Research* **13,** 2281-2289.

Grealish S., Mattsson B., Draxler P., Björklund A., 2010. Characterisation of behavioural and neurodegenerative changes induced by intranigral 6-hydroxydopamine lesions in a mouse model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci.* **31,** 2266-2278.

Greek, R., Shanks, S., 2009. *Animal Models in Light of Evolution*. Boca Raton, FL: BrownWalker Press

Green M.F., Kern R.S., Braff D.L., Mintz J., 2000. Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: Are we measuring the "right stuff"?. *Schizophrenia Buletin* **26**, 119–136.

Guberski D.L., Thomas V.A., Shek W.R., Like A.A., Handler E.S., Rossini A.A., 1991. Induction of type I diabetes by Kilham's rat virus in diabetes-resistant BB/Wor rats. *Science* **254**, 1010–1013.

Gawrylewski A., 2007. The Trouble with Animal Models. *The Scientist* **21**, 44.

Heaney .RP.,1996. Nutrition and risk for osteoporosis. In: Osteoporosis. (Marcus R., Feldman D., Kelsey J. (eds.). *Academic Press*, 483-509.

Ikegami H., Fujisawa T., Toshio O., 2015. Mouse Models of Type 1 and Type 2 Diabetes Derived from the Same Closed Colony: Genetic Susceptibility Shared Between Two Types of Diabetes. *ILAR Journal* **45,** 268-277.

Jaidane H., Sane F., Gharbi J., Aouni M., Romond M.B., Hober D., 2009. Coxsackievirus B4 and type 1 diabetes pathogenesis: contribution of animal models. *Diabetes Metabolism Research and Review* **25**, 591–603.

Jun H.S., Yoon J.W., 2003. A new look at viruses in type 1 diabetes. *Metabolism Research and Review* **19**, 8–31.

Jurjus A.R., Khoury N.N., Reimund J.M., 2004. Animal models of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* **50**, 81-92.

Kane A.B**., 2006.** Animal models of malignant mesothelioma. *Inhalation Toxicology* **18**, 1001-1004.

Kang Y., Chatterjee N.K., Nodwell M.J., Yoon J.W., 1994. Complete nucleotide sequence of a strain of coxsackie B4 virus of human origin that induces diabetes in mice and its comparison with nondiabetogenic coxsackie B4 JBV strain, *Journal of Medical Virology* **44**, 353–361.

Kim H.R., Rho H.W., Park B.H., Park J.W., Kim J.S., Kim U.H. i sur. 1994. Role of Ca2+ in alloxan-induced pancreatic beta-cell damage. *Biochimica et Biophysica Acta* **1227**, 87–91.

King A., 2012. The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharamacology* **166**, 877-894.

Kormeili T., Lowe N. J., Yamauchi P. S., 2004. Psoriasis: immunopathogenesis and evolving immunomodulators and systemic therapies; U.S. experiences. *British Journal of Dermatology* **151**, 3-15.

Kowall N.W., McKee A.C., Yankner B.A., Beal M.F., 1992. In vivo neurotoxicity of beta-amyloid [beta(1-40)] and the beta(25-35) fragment. *Neurobiology of aging* **13**, 537-542.

Lelovas P.P., Xanthos T.T., Thoma S.E., Lyritis G.P., Dontas I.A., 2008. The Laboratory Rat as an Animal Model for Osteoporosis Research. *Comprative Medicine* **58**, 424-430.

Lenzen S., 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin- induced diabetes, *Diabetologia* **51**, 216-226. Malaisse W.J., Malaisse-Lagae F., Sener A., Pipeleers D.G., 1982. Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B cell. *Proceedengs of the National Academy of Sciences* **79**, 927–930.

Lowes M. A., Bowcock A. M., Krueger, J. G., 2007. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature* **445,** 866-73.

Masiello P., 2006. Animal models of type11 diabetes with reduced pancreatic β-cell mass. *The international Journal of Biochemistry and Cell Biology* **38**, 873-893.

Masiello P., Broca C., Gross R., Roye M., Manteghetti M., Hillaire-Buys D., Novelli M., Ribes G., 1998. Experimental niddm: Development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes* **47**, 224-229.

Mathews C.E., Leiter E.H., 1999. Constitutive differences in antioxidant defense status distinguish alloxan-resistant and alloxan-susceptible mice. *Free Radical Biology and Medicine* **27**, 449–455.

Medina D., 2000. The preneoplastic phenotype in murine mammary tumorigenesis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* **5,** 393-407.

Miguel-Hidalgo J.J., Cacabelos R., 1998. Beta-amyloid(1-40)-induced neurodegeneration in the rat hippocampal neurons of the CA1 subfield. *Acta Neuropathologica* **95**, 455-465.

Noonan F.P., Dudek J., Merlino G., De Fabo E.C., 2003. Animal models of melanoma: an HGF/SF transgenic mouse model may facilitate experimental access to UV initiating events. *Pigment Cell Research* **16,** 16-25.

Nerup J., Mandrup-Poulsen T., Helqvist S., Andersen H.U., Pociot F., Reimers J.I., 1994. On the pathogenesis of IDDM, *Diabetologia* **37**, 82–89.

Pippin J., 2009. Humane Seal Fact Sheet on Animal Experimentation. *Physicans comittee for Responsible Medicine*

Peng Y., Brown N., Finnon R., Warner C.L., Liu X., Genik P.C., Callan M.A., Ray F.A., Borak T.B., Badie C., Bouffler S.D., Ullrich R.L., Bedford J.S., Weil M.M., 2009. Radiation leukemogenesis in mice: loss of PU.1 on chromosome 2 in CBA and C57BL/6 mice after irradiation with 1 GeV/nucleon 56Fe ions, X rays or gamma rays. Part I. Experimental observations. *Radiation Research* **171**, 474-483.

Portha B., Levacher C., Picon L., Rosselin G., 1974. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes* **23**, 889-895.

Raychaudhuri S. P., Farber E. M., 2001. The prevalence of psoriasis in the world. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* **15,** 16-7.

Rees D. A., Alcolado J. C., 2004. Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* **22**, 359-370.

Risbud M.V., Bhonde R.R., 2002. Models of pancreatic regeneration in diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* **58**, 155-165.

Rosenberg D.W., Giardina C., Tanaka T., 2009. Mouse models for the study of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* **30**, 183-196.

Rosenstiel P., Sina C., Franke A., Schreiber S., 2009. Towards a molecular risk map – Recent Advances on the etiology of inflammatory bowel disease. *Seminars in immunology* **21**, 334-345.

Roux C., Pelissier C., Listrat V., Kolta S., Simonetta C., Guignard M., Dougados M., Amor B., 1995. Bone loss during gonadotropin releasing hormone agonist treatment and use of nasal calcitonin. *Osteoporosis International* **5**, 185-190.

Sandler S., Swenne I., 1983. Streptozotocin, but not alloxan, induces DNA repair synthesis in mouse pancreatic islets in vitro. *Diabetologia* **25**, 444–447.

Schön M.P., 1999. Animal models of psoriasis-what can we learn from them?. *The Journal of Investigative Dermatology* **112**, 405-410.

Seeman E., 1996. The effects of tobacco and alcohol use on bone. In: Osteoporosis. Marcus R, Feldman D, Kelsey J (eds.). Academic Press, San Diego, 577-597.

Shimada A., Maruyama T., 2004. Encephalomyocarditis-virusinduced diabetes model resembles 'fulminant' type 1 diabetes in humans. *Diabetologia* **47**, 1854–1855.

Skurić J., Oršolić N. , Kolarić D., Đikić D., Benković V., Horvat Knežević A., Lisičić D., 2011. Effectivity of flavonoids on animal model psoriasis-thermografic evaluation. *Periodicum Biologorum* **113,** 457-463.

Srinivasan K., Ramarao P., 2007. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian Journal of Medical Research* **125**, 451-472.

Stoch S.A., Wagner J.A., 2008. Cathepsin K inhibitors: a novel target for the osteoporosis therapy. *Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* **83,** 172–176.

Taketa T., Sakai A., Tanaka S., Nakai K., Menuki K., Yamane H., Tanaka K., Nakamura T., 2008. Selective cyclooxygenase-2 inhibitor prevents reduction of trabecular bone mass in collagen-induced arthritic mice in association with suppression of RANKL/OPG ratio and IL6

mRNA expression in synovial tissues but not in bone marrow cells. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* **26,** 143–151.

Talmage D.W., Talmage R.V.., 2007. Calcium homeostasis: how bone solubility relates to all aspects of bone physiology. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions* **7,** 108–112.

Turner A.S., 2001. Animal Models of Osteoporosis – Necessity and limitations. *European Cells and Materials* **1**, 66-81.

Waldner M.J., Neurath M.F., 2009. Novel cytokine-targeted therapies and intestinal inflammation. *Current Opinion in Pharmacology* **9**, 702-707.

van der Fits L., Mourits S., Voerman J.S.A. , Kant M., Boon L. , Laman J.D. , Cornelissen F., Mus A.M.,Florencia E., Prens E.P., Lubberts E., 2009. Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice Is Mediated via the IL-23/IL-17 Axis. *The Journal of Immunology* **182**, 5836-5845.

von Linstow R.E., Harbaran D., Micheau J., Platt B., Riedel G., 2007. Dissociation of cholinergic function in spatial and procedural learning in rats. *Neuroscience* **146**, 875-889.

Walker-Bone K., Walter G., Cooper C., 2002. Recent developments in the epidemiology of osteoporosis. *Current Opinion in Rheumatology* **14,** 411– 415.

Waalkes M.P., 2003. Cadmium carcinogenesis. *Mutat Research* **533**, 107-120.

Wanibuchi H., Salim E.I., Kinoshita A., Shen J., Wei M., Morimura K., Yoshida K., Kuroda K., Endo G., Fukushima S., 2004. Understanding arsenic carcinogenicity by the use of animal models. *Toxicology and Applied Pharmacology* **198**, 366-76.

Weir G.C., Clore E.T., Zmachinski C.J., Bonner-Weir S., 1981. Islet secretion in a new experimental model for non-insulindependent diabetes. *Diabetes* **30**, 590-595.

Winzell M.S., Ahren B., (2004). The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes* **53**, 215–219.

Yoon J.W., London W.T., Curfman B.L., Brown R.L., Notkins A.L., 1986. Coxsackie virus B4 produces transient diabetes in nonhuman primates. *Diabetes* **35**, 712–716.

Ziv E., Shafrir E., Kalman R., Galer S., Bar-On H., 1999. Changing pattern of prevalence of insulin resistance in psammomys obesus, a model of nutritionally induced type 2 diabetes. *Metabolism* **48**, 1549-1554

www.bu.edu/orccommittees/iacuc/policies-and-guidelines/tumor-policy-for-mice-and-rats/

www.connecttoresearch.org/publications/19

emice.nci.nih.gov/aam/other-laboratory-animal-cancer-models

www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/pogl17.html

www.mdbiosciences.com/whitepaper-imq-induced-psoriasis

www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=20282

www.medicinenet.com/psoriasis/article.htm#what_is_psoriasis

www.merckvetmanual.com/mvm/exotic_and_laboratory_animals/laboratory_animals/animals_used_in_research.html)

www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/neurologija/diskinezije-i-bolesti-malog-mozga/parkinsonova-bolest

mytropicanaslim.wordpress.com/2013/05/16/type-2-diabetes-mellitus/

www.naturalhealthcommunity.org/alzheimers-disease-can-super-food-supplementation-help/16129/

www.neuromodulation.com/central-nervous-system-disease-definition

perpetuum-lab.com.hr/wiki/plab_wiki/fiziologija/glukokortikoidi-r317/

www.qps-austria.com/pages/animal-models/induced-disease-models.php?lang=EN#Parkinson_s_Disease_induced_model

www.rosalindfranklin.edu/Portals/0/Documents/research/Tumor%20Induction%20Guidelines.pdf

www.soc.ucsb.edu/sexinfo/article/parkinsons-disease-and-sexual-dysfunction

9. Sažetak

Kroz povijest se je broj laboratorijskih životinja u istraživanjima povećavao, a s njime se povećavao i broj korištenih vrsta. Danas se životinje koriste kako bi se razumjela njihova biologija te kao organizmi za testiranje lijekova i drugih pojava s ciljem poboljšanja ljudskog zdravlja. Za gotovo svaku poznatu bolest u ljudi istraživači nastoje inducirati bolest sličnih karakteristika u životinja. S ciljem stvaranja takvih modela žvotinje se podvrgavaju raznim zahvatima koji uključuju operacije, traumatske ozljede, onemogućavanje pristupa hrani i vodi, socijalnu izolaciju, bakterijske i virusne zaraze te izlaganje radijaciji, kemikalijama ili toksičnim lijekovima.

Dijabetes tipa I se u zdravih životinja može inducirati primjenom analoga glukoze, streptozotocina i aloksana, a dijabetes tipa II prehranom s povećanim udjelom masti. Ovarijektomija u štakora se najčešće primjenjuje u istraživanjima postmenopauzalne osteoporoze. Upalne bolesti crijeva, ulcerozni kolitis i Crohnova bolest mogu se inducirati pomoću octene i trinitrobenzensulfonske kiseline, indometacina i brojnih drugih spojeva. Istraživanje psorijaze je otežano nedostatkom prirodno javljajućeg poremećaja u laboratorijskih životinja koji oponaša složeni fenotip i patogenezu bolesti u ljudi, ali postoje neke kemijske tvari kojima se mogu prouzročiti simptomi karakteristični za psorijazu. Modeli bolesti središnjeg živčanog sustava se također mogu stvoriti. Miševi su se pokazali kao dobri modeli shizofrenije, Alzheimerove bolesti te Parkinsonove bolesti. Postoji nekoliko načina indukcije tumora u laboratorijskih životinja koji uključuju izlaganje radijaciji i kemijskim tvarima, virusne infekcije te transplantacije.

10. Summary

Number of laboratory animals was increasing during the history as well as number of used species. Today, animals are used to understand basic biology and as test subjects for the development and testing of drugs and other phenomena to improve human health. For practically every known human disease researchers attempt to induce similar aspects of the disease in animals. In order to create these models, animals are subjected to different procedures which include surgeries, traumatic injuries, food, water and social deprivation, viral and bacterial infections, exposing to radiation, chemicals or toxic drugs.

Diabetes type I in animals can be induced by glucose analogues, streptozoticin or aloxan, while diabetes type II can be induced by high fat feeding. The ovariectomized rat model is most commonly used in research on postmenopausal osteoporosis. Inflammatory bowel diseses, Crohn´s disease and ulcerous colitis, are induced by chemicals like acetic and trinitrobenzenesulfonic acid, indomethacin and many other. Research into the pathogenesis of psoriasis has been hampered by the lack of a naturally occuring disorder in laboratory animals that mimics the complex phenotype and pathogenesis of the human disease. However, there are some chemicals that can induce certain symptoms which are common in psoriasis. Some central nervous system disease models can be also created. Mice are shown to be good models of schizophrenia, Alzheimer's disease and Parkinson’s disease. There are several ways to induce tumors in laboratory animals which include radiation and chemicals exposures, virus infections and transplantations.