

OBRAZAC 3

Naslov projekta	FP7, 'Bioreactor-based, clinically oriented manufacturing of engineered tissues' (BIO-COMET), HEALTH-F4-2011-278807		
Trajanje projekta	Prosinač 2011. - prosinač 2015.		
Ključne riječi (najviše do 5)	Bioreaktor, nosač, nosni hondrociti, osteoartritis		
	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).	Cilj je ovog projekta razvoj i pretkliničko testiranje funkcionalnog, autolognog tkivnog presatka sa ponovljivim svojstvima, uzgojenog u bioreaktoru opremljenom senzorima. Proizvodna paradigma zasnovana na bioreaktoru biti će obrađena u specifičnom kontekstu obnove hrskavice. Inovativne značajke predložene strategije tkivnog inženjeringa će uključivati: (I) automatiziran i kontroliran proizvodni sustav, (II) bioreaktor usklađen s propisanim smjernicama, (III) pojednostavljen, racionaliziran i razmjernan proces tkivnog inženjeringa, (IV) <i>on-line</i> praćenje parametara kulture i kvalitete i (V) sustave upravljanja radi sljedivosti podataka. Kako bi omogućili postizanje ovih ciljeva, BIO-COMET istraživačka skupina okuplja međunarodno priznate stručnjake iz područja regenerativne medicine, iz akademskih, kliničkih i industrijskih istraživačkih institucija. Uspješna implementacija projekta biti će instrumentalna u proširenju primjene platformi temeljenih na bioreaktoru čak i izvan tkivnog inženjeringa hrskavice, sa konačnim ciljem uspostavljanja široke upotrebe i komercijalizacije stanično temeljenih implantata kao terapijskih rješenja. Izuzevši parcijalne i totalne endoproteze još uvijek ne postoji kirurški zahvat za liječenje oštećenja zglobove hrskavice. Iako je u zadnjih nekoliko desetljeća velik napredak postignut na polju tkivnog inženjeringa, potreba za ostvarivim i održivim tkivnim presadcima dobivenim tkivnim inženjeringom kojima bi se rekonstruirala velika hrskavična oštećenja još nije zadovoljena. Cilj ovog istraživanja je ispitati mogućnost upotrebe hondrocita iz nosnog septuma kao alternativu globalnim hondrocitima, a u svrhu proizvodnje koštano-hrskavičnih presađaka u bioreaktoru.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti	Perfuzijski bioreaktori za proizvodnju hrskavičnih presađaka upotrebom autogenih hondrocita i nosača predstavljaju obećavajuću metodu koja bi mogla zadovoljiti kliničke potrebe		

<i>unaprjeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).</i>	za liječenje ovakvih oštećenja. Obzirom da biopsija hondrocita, čak i kad se radi s mjesta koje nije pod opterećenjem, uzrokuje nekrozu i oštećenje donorskog mjesta te predstavlja dodatni operativni zahvat za zglobov, istraživana je mogućnost uzimanja hondrocita s drugih lokacija kao što su uška, nosni septum i prednji kraj rebara u svrhu uzgoja tkiva za liječenje zglobovnih oštećenja. Posebno zanimljivi, zbog lake dostupnosti te bolje ekspanzije u kulturi, od zglobovnih hondrocita su hondrociti nosnog septuma. Istraživanja su pokazala da i na mehanička opterećenja reagiraju približno kao nativna zglobna hrskavica. Očekivana korist. Iz implantacije hrskavičnih presađaka u izolirane hrskavične defekte možemo očekivati više koristi: • Kraće vrijeme rehabilitacije. Implantacija zrelijeg tkiva trebala bi pridonijeti kraćem vremenu oporavka, ranijem postoperativnom opterećenju zglobova i bržem povratku pacijenata u svakodnevni život i sport. • Nema ograničenja veličine. Ova se tehnika može koristiti za hrskavične defekte svih veličina (do 8cm²). • Hijalina hrskavica. Znanstvena je pretpostavka da će dugoročno oporavljeno tkivo biti hijalina hrskavica umjesto fibrozne, te time posjedovati superiorna svojstva po pitanju trajnosti i stabilnosti u usporedbi sa drugim tehnikama. • Dodatna korist u slučaju korištenja nosnih hondrocita: • Nema bolesti donorskog mjesta. Uzimanje autolognih presađaka hrskavice ili biopsata sa nenosive površine zgloba ostavlja sekundarni defekt u zglobov, što je dokazano štetno za okružujuću zglobnu hrskavicu. Biopsati uzeti iz hrskavice nosne pregrade ne bi trebali uzrokovati bolesti donorskog mjesta. Buduća korist u slučaju korištenja nosnih hondrocita: • Zglobna hrskavica mora se uzimati sa zdrave, nenosive površine, što ograničava dostupnost materijala. U slučaju nekih bolesti, uzimanje zglobne hrskavice nije niti moguće. Nadalje, dokazano je da je su svojstva zglobne hrskavice ovisna o dobi, dok su svojstva nosnih hondrocita manje ovisna o dobi, te imaju veći proliferativni i diferencijacijski kapacitet. Ovo bi moglo omogućiti ekstenziju ove tehnike i na starije pacijente ili na pacijente sa insuficijentnom količinom zdrave zglobne hrskavice.
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Ovce, 16 jedinki
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Težina pokusa: NEPOVRATAN POKUS. S obzirom da je za procjenu rezultata pokusa potreban izdašan uzorak hrskavice i subhondralne kosti koljena, životinje je potrebno eutanazirati, jer ih po uzorkovanju nije moguće vratiti u prijašnje

	zdravstveno stanje. Eutanazija će se obaviti intravenskom primjenom preparata za eutanaziju (EUTHASOL 400 mg/ml, u dozi od 140 mg/kg). Tijekom ispitivanja biti će poduzete mjere dobrobiti.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Istraživanje se provodi na životinjama jer ne postoji adekvatan alternativni model za simulaciju upalnog odgovora zglobne hrskavice. Kako bismo ispitali kvalitetu cijeljenja te strukturu hrskavičnog presatka dobivenog iz bioreaktora na kritično velikim oštećenjima, potrebno je upotrijebiti veliki životinjski model. Nemoguće je prenijeti rezultate istraživanja u kliničku primjenu bez istraživanja sigurnosti i primjenjivosti presatka na životinjskom modelu s odgovarajućim zglobnim opterećenjem.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Istraživanje će se provesti na 16 ovaca, starosti 1-3 godine. Broj životinja izračunat je kako bi se dobili najvjerodostojniji podaci uz najmanji broj životinja. Ovce će biti podijeljene u dvije testne skupine. Kod prve (kontrolne), u hrskavični defekt ugrađivat će se samo nosač, dok će se kod druge ugrađivati isti nosač, ali sa kulturom nosnih hondrocita uzgojenih u bioreaktoru. Kako bi se broj životinja držao na minimumu, u svakom će se koljenu napraviti dva defekta.
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.	Ovce se koriste zato što one predstavljaju prihvaćeni racionalni model u pretkliničkim istraživanjima za humanu ortopediju (tj. koljeno ovce je anatomski i fiziološki model za koljeno čovjeka). Svi zahvati na životinjama radit će se prema pravilima struke. Asepsa i antisepsa prilikom operacijskog zahvata provodit će se protokolima po preporuci Svjetske zdravstvene organizacije (WHO). Ovce će tokom boravka na klinici biti držane u prikladnim uvjetima, uz svakodnevno svježu hranu i vodu, pod svakodnevnom nadzorom doktora veterinarske medicine. Redovito praćenje zdravstvenog stanja tijekom pokusa provodit će se svakodnevnom praćenjem i kliničkim pregledom životinja. Svaka promjena u ponašanju ili zdravstvenom stanju životinja prijavljivat će se veterinaru zaduženom za praćenje pokusnih životinja i voditelju pokusa. Ukoliko se u životinja uoče promjene zdravstvenog stanja, one se izdvajaju od ostalih životinja te se provodi daljnja obrada. Za boravka na OPG-u, ovce će se držati u prirodnim uvjetima, na ograđenom pašnjaku uz svakodnevne kontrole osoblja gospodarstva, te periodičke kontrole od strane doktora veterinarske medicine. Prema potrebi će se poduzeti mjere liječenja životinja. Zahvate i kontrole će vršiti imenovano osoblje osposobljeno za rad s pokusnim životinjama.