

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

OBRAZAC 3

Naslov projekta	„Spinalna fuzija u kunića“ u sklopu europskog HORIZON 2020 projekta: «OSTEOproSPINE - Novel Bone Regeneration Drug “Osteogrow”: Therapeutic Solution for Lumbar Back Pain» (ugovor br. 779340)		
Trajanje projekta	1. listopada 2018. - 30. rujan 2022. godine (4 godine)		
Ključne riječi (najviše do 5)	Spinalna fuzija u kunića, slabinska bol u kralježnici, alograft, koštani matriks, koštani morfogenetski protein (BMP6)		
	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).	Opći cilj ispitivanja je utvrditi mehanizam i učinkovitost primjene rhBMP6 u kombinaciji s različitim sintetiziranim mineralnim pripravcima u fuziji (spajanju) pomoću novo-inducirane kosti između transverzalnih nastavaka dva susjedna slabinska kralješka. OSTEOproSPINE se sastoji od Osteogrow-a (rekombinantni humani BMP6 u kombinaciji s autolognim krvnim ugruškom) koji je pojačan koštanim alograftom. BMP6 je odabran kao poželjni BMP u usporedbi s BMP2 ili BMP7 / OP1 jer se ne veže na BMP antagonist, Noggin (bogat u kostima). BMP6 se također veže za većinu receptora tipa I i tipa II (za razliku od BMP2 i BMP7) ključnih za signalizaciju, što zahtjeva nižu terapijsku dozu. Autologni krvni ugrušak (ABC) odabran je kao nosač BMP6, jer se veliki broj proteina plazme čvrsto veže na BMP6 što rezultira zadržanim i linearnim oslobađanjem BMP6 tijekom sedam do deset dana bez izazivanja upale i imunološkog odgovora. Ovo je u velikom kontrastu s upalom koja se vidi kada se BMP implantira sa životinjskim kolagenom kao nosačem. Uz potporu EU fondova (FP7 projekt HEALTH.2011.1.4-1, br. 279239) dovršili smo pretklinički razvoj Osteogrow-a i započeli procjenu kliničkih studija koje su po prvi puta primijenjene u ljudi (FIH). OSTEOproSPINE projekt ispitati će da li Osteogrow sam ili u kombinaciji s koštanim alograftom (OSTEOproSPINE) ili nekim drugim kompresivno rezistentnim matriksom može zamijeniti koštani graft kod pacijenata koji su podvrgnuti spinalnoj fuziji. Pozitivan ishod u ovom ispitivanju će potvrditi osteogeni kapacitet Osteogrow / OSTEOproSPINE u postupcima spinalne		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	fuzije kralježnice, osigurati podatke koji ga razlikuju od proizvoda dostupnih na tržištu što bi imalo značajnu refleksiju na komercijalizaciju proizvoda.
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>).	Pozitivan ishod u ovom ispitivanju će potvrditi osteogeni kapacitet Osteogrow / OSTEOproSPINE u postupcima spinalne fuzije kralježnice, osigurati podatke koji ga razlikuju od proizvoda dostupnih na tržištu što bi imalo značajnu refleksiju na komercijalizaciju proizvoda. Oko dva i pol milijuna pacijenata u Europi i SAD-u se godišnje liječi od kronične boli u slabinskom dijelu kralježnice primjenom kirurškog zahvata spinalne fuzije nakon što konzervativni načini liječenja nisu doveli do smanjenja boli. Kirurški zahvat spinalne fuzije koji se trenutno primjenjuje nažalost često nema dugotrajni učinak, te se zahvat mora ponavljati nakon nekog vremena zbog povratka boli. Osteogrow je svojim dosadašnjim kvalitetama pokazao da je siguran, potiče koštanu regeneraciju i cijeljenje te je jeftiniji od postojećih lijekova za koštano cijeljenje koji se nalaze na tržištu te stoga ima značajan marketinški potencijal. Odsustvo ozbiljnih štetnih događaja u Osteogrow kliničkoj studiji ukazuje da je Osteogrow sigurna terapija za cijeljenje prijeloma kosti, a budući da je jeftiniji od postojećih lijekova za koštano cijeljenje koji se nalaze na tržištu ima značajan marketinški potencijal.
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	72 mužjaka, SPF uzgojeni New Zeland albino laboratorijski kunići iz HARLAN Laboratory, Italija, 2,5 – 3 kg tjelesne mase.
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Ne očekujemo negativne učinke na laboratorijskim životinjama tijekom provedbe pokusa. Temeljem poziva na Pravilnik o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe NN 55/13, Razvrstavanja pokusa po težini – Kategorije težine Odsjek III: Stvarna kategorija razvrstavanja pokusa: U pokusima potkožne ugradnje nosača kod laboratorijskih kunića, svi će biti podvrgnuti postupcima UMJERENE težine. U predloženom projektu nema postupaka koji bi ulazili u kategoriju postupaka s jakim fiziološkim posljedicama i izraženom patnjom laboratorijskih kunića i ulazili u kategoriju velike težine. Neškodljivo uklanjanje životinja po izvršenim planiranim pokusima i pretragama.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	U našem projektu predvidjeli smo načela 3 R što uključuje: maksimalno zamjenjivanje („Replacement“) u 3R–pokusa na životinjskim modelima sa <i>in vitro</i> modelima – te takve postulate, modele i načela koristimo kad god je moguće izbjeći pokus <i>in vivo</i> . Obzirom da do željenih rezultata nije moguće doći <i>in vitro</i> metodom ili putem drugih znanstvenih metoda, planirano je koristiti minimalan broj laboratorijskih kunića koji

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	će se podvrgnuti pokusu uz odgovarajuću veterinarsku skrb tijekom trajanja pokusa uz educirano osoblje, odgovorne osobe i njihove zamjenike. Pretraživali smo aktualne baze podataka koje se odnose na alternativne primjene studija bez životinjskih modela; altweb, the global clearing house on alternatives to animal testing; 10.7.2018. altbib bibliography on alternatives to animal testing, 12.7.2018. i altex-Alternatives to Animal experiments - NCBI te nismo ustvrdili da se u slučaju naših opisanih postupaka provođenja pokusa mogu primijeniti alternativne metode bez primjene laboratorijskih životinja. Konzultirali smo znanstvenu bibliografiju GoogleScholar i PubMed 13.7.2018. za odgovarajuću znanstvenu metodologiju u području koštane biologije, imunologije i osteoimunologije. Također, mogućnost korištenja 'nižih' životinjskih vrsta kao što su (Zebrafish) laboratorijske vrste ribice ili vinska mušica (<i>drosophilla melanogaster</i>) u našem slučaju nije realan odabir u postizanju rezultata kojim dokazujemo stvaranje nove ektopične kosti.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	U našem istraživanju nije moguće izbjeći obavljanje pokusa na živim jedinkama - životinjama, stoga s posebnom pažnjom planiramo sve pokuse tako da što je više moguće smanjimo („Reduction“ u 3R) broj životinja u pokusu kao i broj ukupnih pokusa na životinjama. Istraživanje je pomno planirano na najmanjem mogućem broju životinja (6 životinja po grupi) a da pri tome rezultati istraživanja ostanu statistički validni bez ugrožavanja ciljeva projekta. S osvrtnom na potrebnu provedbu i težinu studije te očekivani učinak, uvijek slijedimo statističke metode izračuna najmanje potrebne veličine broja laboratorijskih životinja za kontrolne i pokusne skupine.
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.	Sve zahvate na životinjama smo temeljito metodološki proučili, pripremili i prilagodili za tzv. („Refinement“ u 3R), tako da su maksimalno usmjereni na smanjivanje patnje životinja tijekom trajanja pokusa. Nadalje, slijedit ćemo postulate dobre veterinarske prakse pri postupcima poboljšanja stanja životinja tijekom pokusa (uklanjanje boli i tjeskobe): 1. Svakodnevno praćenje kliničkog stanja svih životinja prema skali boli, žrtvovanje u slučaju znakova teže patnje koji se ne očekuju s obzirom na provedeni postupak. 2. Životinje će u baterijama sa kavezima imati odgovarajuće okolišno obogaćenje uz poštivanje svih standarda rada sa životinjskim modelima i biti će smještane tako da imaju neometani pristup hrani i vodi <i>ad libitum</i>. 3. Prema potrebi i prema znakovima boli i patnje, tijekom trajanja pokusa, a prema procjeni imenovanog veterinara institucije, primjenjivat će se analgetik. S osvrtnom na potrebnu

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	provedbu i težinu studije te očekivani učinak, uvijek slijedimo izračun najmanje potrebne veličine broja laboratorijskih životinja za kontrolne i pokusne skupine. Temeljem toga, u našem projektu predviđeno maksimalno zamjenjivanje („<i>Replacement</i>“ u 3R) pokusa na životinjama modelima <i>in vitro</i>. U slučajevima kada ne možemo izbjeći pokus na životinji, s visokom pažnjom planiramo pokuse tako da što više smanjimo („<i>Reduction</i>“ u 3R) broj životinja u pojedinom pokusu i broj ukupnih pokusa na životinjama. Sve zahvate na životinjama smo temeljito metodološki proučili, pripremili i prilagodili („<i>Refinement</i>“ u 3R), tako da su maksimalno usmjereni na smanjivanje patnje životinja tijekom pokusa. Svi istraživači i znanstvenici koji sudjeluju u pokusima na laboratorijskim životinjama su prošli dodatnu izobrazbu o 4A odgovornih pokusa na životinjama: 1) svijest („<i>Awareness</i>“) o patnji koju proživljava pokusna životinja tijekom pokusa, 2) potreba da se prouče („<i>Assess</i>“) svi postupci na životinjama kako bi se što više 3) izbjegla („<i>Avoid</i>“) ili 4) ublažila („<i>Alleviate</i>“) patnja životinja u pokusu.
--	---