

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Cijeljenje prijeloma lokalnom primjenom rekombinantnog humanog koštanog morfogenetskog proteina 6 i autolognog krvnog ugruška u osteoporotičnih štakora prethodno sistemski tretiranih bisfosfonatima		
Trajanje projekta	15.06.2019. – 15.06.2021.		
Ključne riječi (najviše do 5)	atipični prijelomi femura, bisfosfonati, rhBMP6		
	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>).	Atipični prijelomi femura su rijetki prijelomi koji se dovode u vezu s dugotrajnom terapijom bisfosfonatima u osoba oboljelih od osteoporoze. Najčešće nastupaju bilateralno, otežano cijele unatoč najnaprednijim metodama osteosinteze i predstavljaju značajan invaliditet za pacijenta. Studije pokazuju kako se sinergijom anabolika koštanih morfogenetskih proteina i antiresorptivnog lijeka bisfosfonata postiže bolje i brže cijeljenje kosti, s formiranjem čvršćeg kalusa. Promatrati će se koštano cijeljenje atipičnih prijeloma femura na modelu osteoporotičnog štakora, prethodno izloženih bisfosfonatima te lokalnom primjenom Osteogrow-a (rekombinantni humani BMP6 (rhBMP6) s autolognim krvnim ugruškom). BMP6 je odabran kao superiorniji BMP u usporedbi s BMP2 ili BMP7/OP1 jer se ne veže na BMP antagonist, Noggin. Autologni krvni ugrušak odabran je kao nosač BMP6, jer se veliki broj proteina plazme čvrsto veže na BMP6 što rezultira oslobađanjem BMP6 tijekom sedam do deset dana bez izazivanja upale i imunološkog odgovora, što je razlika u odnosu na BMP vezan za životinjski kolagen kao nosač. Pozitivan ishod u ovom ispitivanju će potvrditi pozitivan osteogeni kapacitet Osteogrowa u postupku cijeljenja atipičnih prijeloma femura. Učinkovitost rhBMP6 proteina u životinjskim modelima kao i sigurnost njegove primjene kod životinja poznata je iz relevantne literature priložene u Obrascu 2.		

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>).	Atipični prijelomi femura slabo ili nerijetko uopće ne cijele, unatoč svim saznanjima moderne traumatologije o vrsti i metodama osteosintetskog materijala te biologiji koštanog cijeljenja. Istraživanja je pretkliničko testiranje novog pristupa u liječenju atipičnih prijeloma femura na modelu štakora. Model slijeda događaja koštanog cijeljenja u štakora odgovara procesu ljudskog cijeljenja prijeloma, unatoč razlikama u histološkoj građi. Lokalnom aplikacijom rhBMP6 na mjesto osteotomije femura u štakora izloženog bisfosfonatima moglo bi se postići brže i efikasnije koštano cijeljenje, uslijed poništenja kataboličkog učinka BMP-a bisfosfonatima. Znanstveni doprinos ovog pretkliničkog testiranja je prodonijeti što boljem razumijevanju procesa koštanog cijeljenja atipičnih prijeloma femura na modelu osteoporotičnog štakora, prethodno izloženih bisfosfonatima te lokalnom primjenom Osteogrow-a (rekombinantni humani BMP6 (rhBMP6) s autolognim krvnim ugruškom).
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	100 laboratorijskih štakora
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 neobjašnjive situacije ili iznenadnu smrt laboratorijskih životinja tijekom provedbe postupaka do samog izvršenja eutanazije zadnjeg dana pokusa. Smrtnost je rijetka osim u anesteziji izazvanoj individualnim biološkim varijacijama, što također ne očekujemo.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Replacemt - Konzultiranjem literature alternativnih in vitro metoda nismo pronašli zamjenski metode na kojima bi se planirane studije provođenja pokusa izvodile (pristup bazi AltWeb, The global clearing house on alternatives to animal testing 5.04.2019., AltBib bibliography on alternatives to animal testing 16.03.2019., ALTEX -Alternatives to Animal experiments - NCBI 16.03.2019.)
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Reduction - Pažljivim planiranjem odabirali smo najmanji mogući broj životinja i broj ukupnih pokusa na životinjama koji jamče statistički značajne rezultate. Istraživanje je pomno planirano na najmanjem mogućem broju životinja a da pri tome rezultati istraživanja ostanu statistički validni bez ugrožavanja ciljeva projekta. Broj životinja po skupinama je jasno definiran smjernicama prema radu Perić et al.
3. Poboljšanje Objasniti izbor vrsta i zašto su korišteni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve.	Refinement - U pokusima ovog istraživanja koristit će se laboratorijski štakori soja Sprague Dawley iz vlastitog uzgoja koji su se u našim prethodnim testiranjima pokazali kao idealna animalna vrsta za ovakav oblik istraživanja. Pokuse ćemo izvoditi prema pravilima dobre laboratorijske prakse te u

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje.	skladu s preporukama iz relevantne literature. Brojne znanstvene publikacije pokazuju da su u tu svrhu najbolji pokusni modeli oni u kojima se istražuju funkcijske promjene u laboratorijskim štakorima. Izbor drugih modela pokusnih životinja u vidu "nižih" životinjskih vrsta kao što su laboratorijske vrste ribica (Zebrafish) ili vinska mušica (<i>drosophilla melanogaster</i>) za ovakav tip istraživanja nije realan odabir za postizanje rezultata. Pretražili smo znanstvenu bibliografiju za odgovarajuću znanstvenu metodologiju u području koštane biologije, imunologije i osteoimunologije. (pristup bazi GoogleScholar i PubMed 5.04.2019.) Temeljito smo metodološki proučili i pripremili istraživanje kako bi se maksimalno smanjila patnja ispitivanih životinja tijekom trajanja pokusa s jasno definiranim i unaprijed određenim krajnjim točkama. Tijekom planiranog istraživanja provoditi će se postupci poboljšanja stanja ispitivanih životinja, u vidu uklanjanja boli i tjeskobe prilikom provođenja postupaka te u periodu bez postupaka. Ispitivanim životinjama će se svakodnevno pratiti kliničko stanje prema skali boli, a u slučaju znakova teže patnje ili nepredviđenih popratnih pojava prilikom trajanja istraživanja, pristupit će se eutanaziji. Ispitivane životinje će u svojim kavezima biti smještene na dubokoj stelji, uz neometani pristup hrani i vodi <i>ad libitum</i> te će imati dostupno okolišno obogaćenje uz zadovoljavanje svih standarda rada s životinjskim modelima. Prema znakovima boli, tjeskobe ili patnje ispitivanih životinja prema potrebi će se primjenjivati analgetska terapija.
---	--

