

HRVATSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI
Zavod za kliničku i transplantacijsku imunologiju i molekularnu
medicinu u Rijeci

AKADEMIJA MEDICINSKIH ZNANOSTI HRVATSKE – podružnica Rijeka

SVEUČILIŠTE U RIJECI
Odjel za biotehnologiju

MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U RIJECI

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR RIJEKA

HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR – podružnica Rijeka

16. simpozij

**ISTRAŽIVANJA NA MODELIMA LABORATORIJSKIH
ŽIVOTINJA: STANJE I PERSPEKTIVE U HRVATSKOJ I NA
SVEUČILIŠTU U RIJECI**



6. listopada 2016.

9,30 sati

Sveučilišni kampus, Sveučilišni Odjeli, Dvorana O-030, Radmile Matejčić 2, Rijeka

Zakonska regulativa istraživanja na životinjama

Mr. sc. Branka Buković Šošić

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Zagreb

Europska zajednica je 1998. godine postala stranka Europske konvencije o zaštiti kralježnjaka koji se koriste u pokusne i druge znanstvene svrhe¹ i na međunarodnoj razini priznala važnost zaštite i dobrobiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe.

Dobrobit životinja je kao vrijednost Europske unije uključena u članak 13. Ugovora o funkcioniranju Europske unije (UFEU). Direktivom 2010/63/EU Europskog parlamenta i Vijeća o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe² razvijena su detaljnija i transparentnija pravila za smanjenje razlika među državama članicama na području EU vezano za korištenje životinja u znanstvene svrhe, s ciljem osiguranja pravilnog funkcioniranja unutarnjeg tržišta.

Zakonom o zaštiti životinja (NN, 135/06) i Pravilnikom o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN, 55/13) transponirana je Direktiva 2010/63/EU u nacionalno zakonodavstvo.

Zbog dostupnosti novih znanstvenih spoznaja o čimbenicima koji utječu na dobrobit životinja kao i sposobnosti životinja da osjete i izraze bol, patnju, stres i trajno oštećenje, ovim propisima donijete su strože i transparentnije mjere u području korištenja životinja u pokusima. Podizanjem minimalnih standarda za zaštitu životinja koje se koriste u pokusima u skladu s najnovijim razvojem znanosti te uzimajući pri tome u obzir u najvećoj mjeri zahtjeve načela 3R (zamjena, smanjenje i poboljšanje), unaprijedit će se njihova dobrobit tijekom pokusa.

U svrhu povećanja transparentnosti, olakšanja odobravanja projekata i osiguravanja alata za praćenje usklađenosti pokusi se razvrstavaju po težini na temelju procijenjenih razina boli, patnje, stresa i trajnih oštećenja koja se životinjama nanose tijekom pokusa. Za potrebe izvješćivanja u obzir se uzima stvarna jačina boli, patnje, stresa ili trajnog oštećenja koje životinje osjećaju, a ne samo predviđenu jačinu boli u vrijeme procjene projekta.

S obzirom da dobrobit životinja koje se koriste u postupcima u velikoj mjeri ovisi o kvalitetnoj i profesionalnoj osposobljenosti osoblja koje nadzire i provodi pokuse ili nadzire osoblje koje vodi svakodnevnu brigu o životinjama, osoblje korisnika, dobavljača i uzgajivača mora biti odgovarajuće obrazovano, obučeno i kompetentno. Kako bi se osigurao trajan nadzor poštivanja odredbi vezano za dobrobit životinja, svaki objekt mora odrediti osobu odgovornu za skrb i dobrobit životinja te imenovati veterinaru sa specifičnim znanjem na području rada s pokusnim životinjama.

Uzgajivači, dobavljači i korisnici kroz Povjerenstvo za dobrobit životinja, s primarnom zadaćom savjetovanja o pitanjima dobrobiti životinja, također prate razvoj i rezultate projekata na razni objekata, razvijaju kulturu skrbi za životinje i omogućuju alate za praktičnu primjenu i pravovremenu provedbu najnovijih tehničkih i znanstvenih spoznaja u vezi s načelima 3R s ciljem poboljšanja cjelokupnog života životinja.

¹Europska konvencija o zaštiti kralježnjaka koji se koriste u pokusne i druge znanstvene svrhe, <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/123>

² OJ L 276, 20.10.2010, p. 33-79

Cjelovita ocjena projekta koju daje nacionalno Etičko povjerenstvo za zaštitu životinja koje se koriste u znanstvene svrhe u pogledu korištenja životinja, daje osnovu za odobrenje projekta i osigurava provedbu načela 3R u projektima pri čemu u obzir uzima korištenje novih znanstvenih pokusnih tehnika. Pri takvoj procjeni se, zbog moralnih i znanstvenih razloga, svako korištenje životinje procjenjuje u smislu znanstvene i obrazovne utemeljenosti, upotrebljivosti i relevantnosti očekivanih rezultata te se u obzir uzima šteta koja se može uzrokovati životinjama u odnosu na očekivane koristi projekta.

Zbog velike zabrinutosti javnosti vezano za korištenje živih životinja u pokusima, objektivne informacije u vezi s projektima u kojima se koriste žive životinje nadležno tijelo javno objavljuje u obliku netehničkih sažetaka, uzimajući pri tome u obzir zaštitu osobnih podataka, podataka o pravu vlasništva ili povjerljivost podataka.

S obzirom da dostupnost alternativnih metoda uvelike ovisi o napretku istraživanja za razvoj alternativnih metoda, Europska zajednica je osigurala povećano financiranje projekata čiji cilj je zamjena, smanjenje i poboljšanje upotrebe životinja u pokusima. Europski centar za vrednovanje alternativnih metoda je strateška jedinica u okviru Zajedničkog istraživačkog centra Komisije te koordinira vrednovanje alternativnih pristupa u Uniji od 1991. Također je uspostavljen referentni laboratorij Unije za vrednovanje alternativnih metoda kao Europski centar za vrednovanje alternativnih metoda³ (EURL ECVAM). Komisija od država članica traži da pomognu u određivanju i imenovanju odgovarajućih laboratorija za provođenje takvih studija vrednovanja.

Ključne riječi: načelo 3R, transparentnost informacija, europsko zakonodavstvo, vrednovanje alternativnih metoda, procjena projekata

Istraživanja na životinjskim modelima još uvijek su bitna za većinu značajnih medicinskih otkrića: neki problemi i pogled u budućnost

Prof. dr. sc. Astrid Krmpotić
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Uporaba laboratorijskih životinja postaje sve važnija u istraživanjima u području biomedicinskih znanosti. Posebnu ulogu imaju laboratorijski miševi koji pružaju dosad neslućene mogućnosti istraživanja budući da suvremene genske tehnologije omogućuju in vivo istraživanja uloge pojedinih gena i razvoj modela bolesti. Međutim, za moderna biomedicinska istraživanja, potrebno je također imati kvalitetne nastambe za laboratorijske životinje kako bi osigurali optimalne uvjete za uzgoj životinja i provođenje pokusa. Osim što je to važno za reproducibilnost istraživanja, valja istaknuti da su optimalni uvjeti i preduvjet za financiranje znanstvenih projekata koji koriste laboratorijske životinje i za objavljivanje znanstvenih radova u kojima su opisani rezultati in vivo istraživanja. Pored tehnološki vrlo zahtjevnih uvjeta za uzgoj, ne manje važna je i obučena osoblja koje skrbi o životinjama i način vođenja evidencije uzgoja te redoviti nadzor genetičke čistoće pojedinih sojeva i njihovog mikrobiološkog statusa. Ova pitanja, kao i pitanja ishrane laboratorijskih životinja postaju toliko zahtjevna da upravljanje eksperimentalnim i uzgojnim nastambama predstavlja

³ <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/>

veliko financijsko opterećenje za institucije odnosno istraživače. U ovom predavanju nastojat će se istaknuti glavne odrednice bitne za optimalan uzgoj laboratorijskih miševa uključujući tehnološke uvjete, vođenje uzgoja i održavanje životinja u pokusu, nadzor njihovog zdravstvenog stanja kao i najčešći problemi s kojima se pritom susreće.

Predklinički modeli u razvoju novih lijekova za regeneraciju kosti

Akademik Slobodan Vukičević

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Kost ima veliki endogeni potencijal regeneracije. Međutim, obzirom na starenje populacije, ljudske bolesti s poremećajem koštane regeneracije su sve učestalije. Trenutačne strategije koje potiču koštano cijeljenje uključuju različite biomolekule, stanične terapije, biomaterijale i njihove kombinacije. Životinjski modeli za testiranje novih regenerativnih terapija ostaju zlatni standard u pretkliničkim fazama istraživanja i razvoja lijekova. Iako je testiranje na životinjama značajno unaprijeđeno, i dalje se provode studije s neprihvatljivim konačnim ciljevima i krivim zaključcima. U ovom preglednom predavanju raspravit će se životinjski modeli, postupci, metode i tehnologije koje se koriste u istraživanjima koštane regeneracije s ciljem da se pomogne istraživačima u planiranju i provođenju znanstvenih pokusa temeljenim na dobrobiti životinja. U postupku dizajniranja studije na životinjama istraživači trebaju uvažavati slijedeće: skeletne značajke odabrane životinjske vrste; pogodan životinjski model koji je najbliži planiranoj kliničkoj indikaciji; prihvatljiv plan ocjene i validacije postupaka, markera, vrijeme praćenja, konačnih ciljeva i sustava procjene uspješnosti; relevantno doziranje, te utvrđivanje broja pokusnih životinja i primjerena statistička obrada rezultata; te usklađivanje studije s propisima regulatornih agencija i dodatne specifične evaluacije za postupke temeljene na primjeni stanica.

Laboratorijske životinje u farmaceutskoj industriji i biomedicinskim istraživanjima

Dr. sc. Darko Marković

Fidelta Pharmaceutical Company, Zagreb

Razvojem biomedicinskih znanosti, a time i istraživanja u tom području, značajno je porastao opseg korištenja laboratorijskih životinja; kako u temeljnim, tako i u primjenjenim istraživanjima. Laboratorijske životinje se rabe u biološkim istraživanjima (ispitivanja osnovnih bioloških procesa, ponašanja, fiziologije i slično), kao modeli za proučavanje i razumijevanje ljudskih bolesti, kao modeli za razvoj i testiranje lijekova, cjepiva i drugih bioloških proizvoda (protutijela, hormoni slično) te u toksikološkim studijama (ispitivanja neškodljivosti), s ciljem poboljšanja zdravlja ljudi i životinja te učinkovitije zaštite okoliša.

Moderna farmaceutska industrija, koja korijene vuče iz kemijske industrije počinje se razvijati krajem 19-og i početkom 20-og stoljeća, a prvu ekspanziju doživljava nakon II svjetskog rata. Udio životinja u istraživanjima farmaceutske industrije značajno je počeo rasti 50-ih i 60-ih godina prošlog stoljeća, da bi s razvojem novih tehnika, informacijsko tehnološkom modernizacijom, uporabom novih materijala te gradnjom primjerenih nastambi za držanje laboratorijskih životinja, postale sastavni dio istraživačkog i razvojnog procesa 80-ih godina

prošlog stoljeća. Tada počinje snažan rast i transformacija farmaceutskog istraživanja i razvoja, a napredak informacijske tehnologije doprinosi bržoj razmjeni podataka što dovodi do značajnog generiranja bioloških znanja. Početkom ovog stoljeća razvojem modernih i alternativnih metoda te sustavnijom i dosljednijom provedbom zakona o zaštiti životinja, udio korištenja laboratorijskih životinja u farmaceutskoj industriji se smanjio¹. I nadalje, gotovo polovina laboratorijskih životinja korištenih u istraživačke svrhe otpada na farmaceutsku industriju, obuhvaćajući temeljna i primjenjena biomedicinska istraživanja u svrhu istraživanja i razvoja novih lijekova ili cjepiva, bolje dijagnostike te boljih metoda ispitivanja toksičnosti. Broj korištenih laboratorijskih životinja po godini u farmaceutskoj industriji je različit (ovisi o veličini i strategiji kompanije), ali pri odabiru vrsta životinja za biomedicinska istraživanja miševi i štakori su općenito prvi izbor (više od 90%). Ostale vrste se koriste u specifičnim istraživačkim modelima, npr. kunići u testovima iritacije i tolerancije te proizvodnji protutijela, zamorčići u modelima infektivnih i kardiovaskularnih bolesti te u toksikološkim studijama, zatim pas i majmun u toksikološkim studijama gdje su propisana druga vrsta te fereti, ribe, ptice i druge vrste kralježnjaka i beskralježnjaka. Istraživanje i razvoj novih lijekova uključuje niz različitih metodologija, a sam proces je dugačak i složen. Odvija se tijekom 10 do 15 godina² te obuhvaća brojne faze istraživanja i razvoja, od identifikacije mete do registracije lijeka na tržištu. U različitim fazama istraživanja i razvoja novog lijeka koristi se i različit broj životinja, tako da se najviše životinja koristi tijekom tzv. faze "lead" optimizacije i faze prekliničkog razvoja molekula. Tu su najzastupljeniji farmakodinamski (modeli efikasnosti) i farmakokinetički modeli na laboratorijskim životinjama te toksikološke studije/modeli. Sve rezultate prekliničkih ispitivanja (učinkovitosti i neškodljivosti) potrebno je dostaviti regulatornim tijelima prije odobrenja kliničkih studija.

Kako je još uvijek nemoguće izbjeći korištenje laboratorijskih životinja pri istraživačkim i razvojnim projektima farmaceutskih kompanija i ostalih institucija koje se bave biomedicinskim istraživanjima, po principima dobre veterinarske i znanstvene prakse u radu se slijede načela "3R"-a³: životinjski modeli se zamjenjuju alternativnim metodama gdje je to moguće (načelo zamjene - replacement), smanjuje se broj životinja na najmanji mogući broj (načelo smanjenja - reduction) te se poboljšavaju uvjeti uzgoja, smještaja i skrbi (načelo poboljšanja - refinement), kao i procedure korištene u pokusima s ciljem smanjenja boli, patnje, tjeskobe i oštećenja. Prilikom uspostavljanja potrebnih modela životinje su podvrgnute invazivnim postupcima, što može uključivati operacije, traumatske ozljede, socijalne deprivacije, sedaciju, virusne i bakterijske infekcije, kao i izloženost toksičnim lijekovima i kemikalijama. Stoga, sva istraživanja na laboratorijskim životinjama moraju biti u skladu s legislativom i propisanim pravilnicima (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS123, adaptiran 2006), Zakon o zaštiti životinja (NN37/13), Directive 2010/63/EU³ (baza ETS123), Pravilnik o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN55/13), Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NRC2011)⁴...). Farmaceutske kompanije imaju svoje pravilnike i police (najnovije "Bioethics Policy") kojima propisuju način brige i korištenja laboratorijskih životinja, u smislu moralne, znanstvene i obrazovne utemeljenosti te upotrebljivosti i relevantnosti dobivenih rezultata, pri čemu se evaluira moguća šteta nanosena životinjama u odnosu na korist očekivanog projekta (harm – benefit⁵). Time se obvezuju na etičnost i zaštitu dobrobiti životinja te maksimalno izbjegavanje boli, patnje i nelagode za životinje. Provođenje svih postupaka propisano je standardnim operativnim procedurama (SOP). Institucionalna etička povjerenstva / povjerenstva za dobrobit životinja (IACUC, Institutional ethics committee, Ethical review committee...) odobravaju uspostavu novog životinjskog modela (projekta), njegovu opravdanost (koriste se znanstveni izvori; "open access" časopisi, baze podataka i web stranice udruga i organizacija za promicanje zaštite dobrobiti

laboratorijskih životinja) s naglaskom na uvjete držanja, skrb i korištenje životinja te primjenu načela 3R, gdje god je to moguće. Stručnjak za dobrobit životinja (Animal welfare officer/body) involviran je svakodnevno u sve procese korištenja i rada s laboratorijskim životinjama.

Procedure rada na laboratorijskim životinjama mogu provoditi isključivo tehničari i znanstvenici osposobljeni kroz odgovarajuće treninge i edukacije (FELASA⁶ “Continuing education for persons involved in animal experiments”) u za to registriranim i/ili akreditiranim ustanovama, što je dokaz osiguranja kvalitete istraživanja i humanog ophođenja sa životinjama. Rad se odvija u odgovarajućim nastambama za držanje životinja, inspiciranim od nadležnih državnih institucija te akreditiranim od neovisnih udruga (AAALAC-I⁷), što je potvrda o izvrsnosti kompanije koja djeluje u skladu s najvišim standardima osiguranja kvalitete te humanog i etičnog korištenja životinja u biomedicinskim istraživanjima.

Ključne riječi: laboratorijske životinje, biomedicinska istraživanja, farmaceutska industrija, dobrobit životinja, 3R

1. Nuffield Council on Bioethics (2005) *The ethics of research involving animals*; The use animals for research in the pharmaceutical industry, 131-152: <http://nuffieldbioethics.org/wp-content/uploads/The-ethics-of-research-involving-animals-full-report.pdf>
2. Network Science (2004) *The Process of Drug Development*: http://www.netsci.org/scgi-bin/Courseware/projector.pl?Course_num=course1&Filename=top.html.
3. European Commission (2010) *Legislation for the protection of animals used for scientific purposes*: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32010L0063>
4. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NRC, 2011) <https://grants.nih.gov/grants/olaw/Guide-for-the-Care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>
5. RSPCA Evaluating harms and benefits: <http://science.rspca.org.uk/sciencegroup/researchanimals/ethicalreview/functionstasks/evaluatingharmsandbenefits>
6. FELASA Federation of Laboratory Animal Science Associations: <http://www.felasa.eu/>
7. AAALAC-I Association for Accreditation of Laboratory Animal Care: <http://www.aaalac.org/>

Transgencične životinje: modeli za fundamentalna i translacijska biomedicinska istraživanja

Prof. dr. sc. Bojan Polić

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Ubrzani razvoj molekularne biologije i embriologije u posljednjim dekadama prošlog stoljeća omogućio je manipulaciju genomima višestaničnih organizama kao izraz potrebe izučavanja različitih funkcija pojedinih gena i interakcija njihovih produkata u uvjetima složenog organizma. To je dovelo do izvanrednog napretka u izučavanju i razumijevanju molekularnih mehanizama brojnih fizioloških, ali i patofizioloških procesa. Više različitih laboratorijskih životinjskih vrsta koje su do tada upotrebljavane u eksperimentalnim istraživanjima bio je podvrgnut manipulaciji njihovog genoma kako bi se stvorili odgovarajući modeli za pojedine humane bolesti. Laboratorijski miševi su bili među prvim sisavcima na kojima je provedena genetska manipulacija i do danas su ostali najšire korišteni eksperimentalni modeli u translacijskim medicinskim istraživanjima.

Pojam transgencičnih životinja uglavnom obuhvaća dvije različite tehnologije genetske manipulacije kao što su: tehnologija razvoja transgencičnih životinja u užem smislu i

tehnologija ciljane mutacije gena (engl. „gene targeting“). Tehnologija razvoja transgeničnih životinja je razvijena u 70-tim godinama prošlog stoljeća i sasoji se u mikroinjiciranju odgovarajućeg vektora koji sadrži transgen (najčešće gen od interesa pod ektopičnim regulacijskim elementima) u pronukleus zigote. Posljedica ovog postupka jest nasumična integracija transgena u genom domaćina i najčešće njegova pojačana specifična ili nespecifična ekspresija, što predstavlja izvjesna ograničenja u korištenju životinja dobivenih ovom tehnologijom. S druge strane, početkom 80-tih godina je razvijena tehnologija ciljane mutacije gena koja je korištenjem prirodnog mehanizma homologne rekombinacije u embrionalnim matičnim stanicama omogućila vrlo precizne mutacije gena na mjestu gdje se oni nalaze. Ova tehnologija je sa svojim inačicama omogućila inaktivaciju bilo kojeg gena u određenom vremenu što je dovelo do preciznog modeliranja humanih bolesti i širokog korištenja ovih modela u fundamentalnim i translacijskim medicinskim istraživanjima.

Unatoč značajnog ubrzanja akumulacije znanja o uključenosti pojedinih gena u razvoj pojedine bolesti i njihovim mogućim interakcijama zahvaljujući suvremenim visokoprotocnim tehnologijama koje se upotrebljavaju u genomici i proteomici, upotreba životinjskih modela ne gubi nimalo na značaju, već ostaje i dalje glavni alat u potvrdi interakcija pojedinih gena na razini čitavog organizma i procjeni njihove važnosti za razvoj određene bolesti u višestaničnom organizmu.

U ovom predavanju izložiti ću pregled razvoja transgeničnih miševa, uvođenje tehnologije ciljane mutacije gena na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci te njezin značaj za razvoj fundamentalnih i translacijskih biomedicinskih istraživanja na Sveučilištu u Rijeci.

Pretkliničko oslikavanje laboratorijskih životinja

Dr. sc. Vladimir Farkaš
Institut Ruđer Bošković, Zagreb

Razvoj tehnologije omogućio je modifikaciju standardnih metoda kliničkog oslikavanja kako bi se njihova primjena mogla proširiti i na pretklinička istraživanja. Uspješnom prilagodbom mnogih metoda (uz prefiks *mikro*), danas pretkliničko oslikavanje laboratorijskih životinja predstavlja bitan alat u istraživanju animalnih modela humanih bolesti. Mogućnost neinvazivnog *in vivo* prikaza anatomskih struktura, fizioloških, kemijskih i funkcionalnih procesa u korištenih laboratorijskih životinja, čini pretkliničko oslikavanje neizostavnom poveznicom između podataka dobivenih *in vitro* metodama i konačne kliničke primjene. Najčešće korištene pojedinačne metode pretkliničkog oslikavanja su kompjuterizirana tomografija (mikro-CT), magnetska rezonancija (mikro-MRI), pozitronska emisijska tomografija (mikro-PET) i bioluminiscencija. Multimodalno oslikavanje podrazumijeva korištenje dvije ili više metoda oslikavanja na istoj laboratorijskoj životinji. Takav pristup iskorištava sve prednosti, a ujedno kompenzira nedostatke svake pojedine metode. U multimodalnom oslikavanju najčešće se kombiniraju morfološke metode s funkcionalnim metodama (npr. CT i PET, MRI i PET).

Ključne riječi: Pretkliničko oslikavanje, animalni modeli, mikro-CT, mikro-MRI, mikro-PET, bioluminiscencija

Moralno važna svojstva i eksperimentiranje nad životinjama

Prof. dr. sc. Elvio Baccarini

Filozofski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Rasprave o moralnoj dopustivosti korištenja životinja za eksperimentiranje postavljaju dileme koje nije lako riješiti. S jedne strane, imamo neupitne koristi od upotrebe životinja za eksperimentiranje. Kao samo jedan od primjera, može se spomenuti istraživanje inzulina u ranijem razdoblju prošloga stoljeća (Kitcher, 2015). S druge strane, takve koristi nisu uvijek očigledne. Kao banalan primjer, može se spomenuti štetnost koju čokolada može uzrokovati za neke životinje. Primjer je dovoljan za pokazati kako se eksperimentiranja nad životinjama ne mogu mehanički koristiti za napredak u spoznajama koje se tiču ljudskih bića. Naime, kada bi se mehanički primijenile spoznaje o štetnosti čokolade nad nekim životinjama, zaključilo bi se da je čokolada štetna i za ljude, što je apsurdno.

Rasprave o (ne)učinkovitosti eksperimentiranja nad životinjama već uključuju pretpostavku načelne dopustivosti takve prakse. Naime, pretpostavka jest da je praksa dopuštena, pod uvjetom da bude učinkovita. Moguće je, međutim, prigovoriti takvoj pretpostavci i tvrditi da je načelno riječ o nedopustivom instrumentaliziranju životinja. Fundamentalno moralno pitanje, dakle, je pitanje kriterija za moralna vrednovanja upotreba životinja za eksperimentiranje.

U jednoj krajnosti, tvrdi se da samo ljudska bića imaju prava. Ne bi, stoga, bilo granica za eksperimentiranje nad životinjama. To se može tvrditi ili pretpostavljajući da postoji nešto posebno vrijedno u ljudskom životu kao takvom, ili, pak težom da samo ljudi posjeduju ona svojstva koja određuju posjedovanje važnog moralnog statusa.

Smatram da niti jedna od ovih strategija nema dobru perspektivu. Bolje izgleda ima strategija prema kojoj postoji pluralnost moralno relevantnih svojstava, a neka od tih svojstava posjeduju i životinje. Na primjer, moralno je relevantno svojstvo sposobnost osjećanja patnje. U slučaju ljudskih bića, neupitno smatramo da to što pojedinac može osjećati patnju ograničava postupke koje smijemo primijeniti u njegovom slučaju. Slijedi da je patnja moralno relevantno svojstvo. Međutim, tada, izgleda da dosljednost zahtjeva da uvažavamo patnju kao relevantno svojstvo i u slučaju životinja. Posljedično, i životinje zaslužuju moralni status, odnosno one oblike zaštite koji su nužni radi zaštite od patnje.

Koliko god ta tvrdnja bila ispravna, njom smo, za sada, samo zakomplicirali raspravu. Pokazali smo da se životinje ne smiju isključiti iz moralne domene i da im ne smijemo pristupati isključivo instrumentalno. Ali ne raspolažemo jasnim moralnim kriterijima koji nam daju nepobitne odgovore, kada pokušavamo ustanoviti granice legitimnog postupanja u slučajevima upotrebe životinja za eksperimentiranje. Ako je sve do sada rečeno ispravno, tada je ispravna teza prema kojoj odluke trebamo donositi u pojedinim situacijama, uvažavajući sva moralno relevantna svojstva, uz procjenu njihove težine u pojedinim okolnostima (Wolff, 2011). Granice dopustivosti korištenja životinja radi eksperimenata nisu predodređene i općenito definirane. Njih je potrebno ustanovljavati u pojedinim kontekstima koji su određeni raznim činjenicama

Tako, na primjer, bitna činjenica može biti ta da postoji namjera da se životinje koriste radi eksperimentiranja u vezi s moralno kontroverznim svrhama (odnosno, kontroverzne su barem u trenutačnoj raspravi). Takve su svrhe, na primjer, neki mogući oblici genetskog poboljšanja.

Jedan od tih bi mogao biti drastičan produžetak trajanja ljudskog života (na primjer, do više stoljeća) oko kojega postoje istaknuta moralna neslaganja. Zatim, postoje neslaganja oko pitanja moralnog biopoboljšanja. U takvim slučajevima i u takvim kontekstima, eksperimentiranje nad životinjama ne bi bilo javno opravdano. Razlog je u tome što bismo koristili bića s moralno relevantnim svojstvima za moralno upitne (što ne znači i pogrešne) svrhe.

Ostaje pitanje je li ikada dopušteno koristiti isključivo instrumentalno bića koja posjeduju moralna svojstva. Naime, u slučaju eksperimentiranja nad životinjama, korist imamo samo mi, ljudska bića, a životinje nemaju nikakvu korist. Čak i kada bi se reklo da imaju korist kao vrste, sigurno ne bi imale korist pojedine životinje koje se koriste u eksperimentiranju. Dakle, riječ je o čistoj instrumentalnoj upotrebi. Je li to razlog za apsolutnu zabranu korištenja životinja radi eksperimentiranja?

Ne u potpunosti. Valja imati na umu da govorimo o situacijama moralne dileme. S jedne strane dileme je pitanje smijemo li koristiti životinje radi eksperimentiranja. S druge strane dileme je pitanje je li dopušteno izostaviti pružanje pomoći ljudima čije su životne perspektive teške, a čije bi se stanje moglo poboljšati kada bi se određena znanja postigla znanstvenim istraživanjima. Potrebno je, dakle, vagati kontekstualnu važnost moralnog zahtjeva, kao i moralne zabrane.

Ponavljam stav prema kojemu se u ovoj raspravi ne mogu ponuditi općeniti konačni odgovori. Mogu se isključivo ponuditi smjernice rasprave. Takve smjernice čine oni moralni razlozi koji mogu predstavljati područje konsenzusa između razložnih sudionika u procesu moralne rasprave. Na primjer, u skladu sa shvaćanjem morala koje vrijedi za nas, ne može se smatrati da je valjan argument u raspravi onaj koji zanemaruje moralnu težinu patnje. Isto tako, ne može se smatrati da su valjani argumenti i razlozi koji zanemaruju pomaganje drugim ljudskim bićima u krajnje kritičnim situacijama ugrožavanja životnih perspektiva.

To su samo dvije od mogućih smjernica rasprava o granicama legitimiteta korištenja životinja radi istraživanja. Deliberacija razložnih osoba, koje svojim sposobnostima i na temelju moralnih razloga koje uvažavaju mogu biti ravnopravni sudionici stvaranja moralnog uređenja, odvijati će se na temelju sličnih smjernica.

Čovjek i životinja: optimiziranje odnosa u okviru bioetičkih standarda

Prof. dr. sc. Amir Muzur i Doc. dr. sc. Iva Rinčić
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Premda je i ranije bilo apela zasnovanih na suosjećanju sa životinjama, tek je Darwinovo učenje o evoluciji u XIX. stoljeću učvrstilo ideju biološke bliskosti čovjeka i životinje, pa onda i potrebe da se njihov odnos regulira. U naše vrijeme zakoni uglavnom štite životinje od proizvoljnog mučenja, ali se u domeni individualnog morala zadržao čitav niz tragova čovjekova „prava jačega“. Tako se, primjerice, premda sve glasnije osporavani i rigorozno limitirani, još uvijek dozvoljavaju znanstveni pokusi na životinjama, a uzgoj životinja radi ljudske prehrane, kao i sportski, „rekreacijski“ i turistički lov, vrlo su rasprostranjeni.

U ovome radu pokušava se, polazeći od učenja Ignaza Bregenzera, Fritza Jahra i drugih europskih protobioetičara, skicirati set standarda koji bi, pod pretpostavkom da je

legitimiziran na razini lokalne samouprave i prihvaćen među stanovništvom, mogao rezultirati realističnom optimizacijom odnosa čovjeka prema životinjama, primjerenom našem dobu.

Suvremeni pogled na etičke principe u radu s laboratorijskim životinjama

Dr. sc. Ranko Stojković
Institut Ruđer Bošković, Zagreb

Iako se pokusi na životinjama provode od najranijeg doba, svijest o potrebi zaštite dobrobiti životinja u pokusima razvija se krajem 18. i početkom 19. stoljeća. Russell i Burch su 1959. godine u svom radu po prvi puta iznijeli koncept 3R (replacement, reduction, refinement) koji do današnjeg dana ostaje osnova promišljanja znanstvene zajednice u pristupu radu s pokusnim životinjama. Vodeći se načelima etike, Evropska unija je 1986. godine donijela prvu Direktivu (86/609/EEC) kojom je bilo regulirano područje zaštite životinja korištenih u pokusima. Prvotna Direktiva je 2010. godine zamijenjena novom Direktivom 210/63/EU. Važećom direktivom se još više promovira koncept 3R i pooštavaju uvjeti koje je potrebno zadovoljiti kako bi se osigurala dobrobit životinja. Stanovnici Evropske unije sve glasnije izražavaju nezadovoljstvo zbog korištenja životinja u pokusima, te je o ovom stavu neophodno je povesti računa u budućem promišljanju novih pristupa radu s pokusnim životinjama primjenjujući najviše etičke standarde. Sve veći broj podataka, sistematskih pregleda i meta analiza ukazuje na niz sistemskih grešaka/pristranosti prilikom provođenja predkliničkih istraživanja baziranih na animalnim modelima. Uočene greške rezultiraju osrednjom translacijskom korelacijom predkliničkih (animalnih) i kliničkih (humanih) studija. Kako bi se osiguralo poštovanje temeljnih etičkih načela i principa znanosti, potrebno je hitno redefinirati i unaprijediti znanstvene pristupe pokusima na životinjama. Zbog daljnje zaštite dobrobiti pokusnih životinja neophodna je dodatna edukacija znanstvenika i nadležnih zakonodavnih tijela. Osim toga neophodna je pojačana dodatna edukacija stručnjaka u tijelima koja financiraju istraživanja, recenzenata i uređivačkih odbora znanstvenih časopisa. Na ovaj način moguće je značajno smanjiti sistemske greške/pristranosti u planiranju, odobravanju i provođenju pokusa, tumačenju i translaciji dobivenih rezultata, kao i sistemske greške koje nastaju pri objavi znanstvenih radova i time promovirati etički pristup radu s pokusnim životinjama.

***Drosophila melanogaster*: modelni organizam za bazična i medicinska istraživanja**

Doc. dr. sc. Rozi Andretić Waldowski
Odjel za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Još je T.H.Morgan početkom prošlog stoljeća počeo koristiti *Drosophila melanogaster* kao modelni organizam koji omogućuje relativno lako, brzo, jeftino i kontrolirano znanstveno istraživanje u laboratorijskim uvjetima. *Drosophila* se koristi i danas kao jedan od najpogodnijih laboratorijskih organizama radi naknadno uočene visoke genske sličnosti sa sisavcima. Više od stoljeća rada na vinskoj mušici dovelo je značajnih otkrića kako u području definiranja osnovnih genetskih načela, tako i u razvoju i primjeni novih genetskih tehnika.

Dva pristupa zaslužna da je *Drosophila* postala modelni organizam bez premca, i koji se na *Drosophili* lako provode, su: genetski probir i transgenetske tehnike. Genetski probir primjer je forward genetics pristupa, i služi za otkrivanje novih gena koji sudjeluju u određenom procesu, dok transgenetske metode koriste reverse genetics pristup, kojim se definira funkcija novootkrivenih gena.

Transgenetske metode, od kojih je najpoznatiji UAS/GAL binarni ekspresijski sustav, omogućuju vrlo preciznu anatomsku i temporalnu kontrolu nad genskom ekspresijom. Upotreba transgenetskih metoda omogućila je definiranje neuralnih mreža koje generiraju ponašanje kroz detaljnu analizu staničnog i bihevioralnog fenotipa. Razumijevanje složenih obrazaca ponašanja proteklih je godina značajno uznapredovalo korištenjem optogenetičkih pristupa koje kombiniraju genetski sa elektrofiziološkim i bihevioralnim pristupom. Nova metoda za ciljano manipuliranje genima, CRISPR, dalje upotpunjava repertoar sofisticiranih metodologija koja se relativno lako i rutinski primjenjuju u *Drosophile*.

Radi genetske homologije sa sisavcima, otkrića na *Drosophili*, lako se transliraju na ostale organizme, te tako dovode do značajnih napredaka u razumijevanju bazičnih mehanizama funkcioniranja i raznih patološka stanja.