

Naslov projekta	„Ispitivanje učinka probiotičkog soja <i>Lactobacillus sp.</i> i njegovih egzopolisaharida na upalne procese u crijevima kod eksperimentalnih miševa“		
Trajanje projekta	od siječnja 2020. - do siječnja 2024. godine.		
Ključne riječi (najviše do 5)	<i>Lactobacillus sp.</i> , egzopolisaharidi, mikrobiom, oksidacijski stres, upala, makrofagna polarizacija		
	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).	Glavni cilj jest istražiti učinke probiotičkog soja <i>Lactobacillus sp.</i> i njegovih egzopolisaharida na upalne procese u crijevima i pronaći poveznicu između probiotika i njihovih specifičnih proizvoda metabolizma u zaštite sluznice; njihovu antiupalnu i antioksidativnu djelotvornost kao i ulogu u modulaciji imunosnog odgovora, polarizaciji makrofaga te supresiji patogene mikrobiote.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Uloga i značaj crijevne mikrobiote je prilično nepoznat. Ključni putovi crijeva-mikrobiom-CNS komunikacije trenutno uključuju autonomni živčani sustav (ANS), enterični živčani sustav (ENS), imunosni sustav i neuroendokrini sustav. Poremećaj ravnoteže crijevne mikrobiote povezuje se s brojnim funkcionalnim poremećajima kod kroničnih bolesti kao što su tjeskoba, autoimune bolesti, dijabetes, metabolički sindrom, pretilost, te bolesti prouzročene stresom i progresivne neuropsihijatrijske bolesti te upalne bolesti crijeva. Temeljem navedenog, probiotici kao funkcionalni dodaci prehrani i kao „živi bioterapijski pripravci“ (engl. „live biotherapeutics products“ prema US FDA) s terapijskim učinkom, mogli bi biti nova alternativa u održavanju zdravlja i dobrobiti crijeva kroz poticanje homeostaze crijevne mikrobiote te na taj način održavanje važnih homeostatskih procesa kroz kontrolu oksidativnog stresa i upalnog odgovora, te pridonijeti prevenciji i liječenju upalnih bolesti crijeva. Njihov snažni protuupalni, imunomodulatorni antioksidativni, protumikrobni i regenerativni učinak može spriječiti štetne učinke upalnog procesa u IBD-u, spriječiti širenje mikroba, potaknuti zacjeljivanje sluznice te očuvanje crijevne mikrobiote.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	C57BL/6 miševi, 72 miša Za eksperimentalni dio <i>in vivo</i> istraživanja odabrani su miševi C57BL/6 jer literaturni podaci pokazuju da su pogodan model za indukciju upalnih bolesti crijeva te patološkog razvoja upale s primjenom kemijskog iritanta natrij dekstran sulfata (DSS) te narušavanja crijevne barijere, promjena mukoznog dijela sluznice, razvoja imunosnog odgovora, i promjene mikrobioma.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Tijekom DSS unosa, miševi mogu pokazati naglašen gubitak težine (oko 5% -10% smanjenja tijekom 5 dana), izmijenjenu konzistenciju stolice što dovodi do proljeva i hematokaze te pokazatelje životinjskog stresa. Neizbježna smrt dolazi ako je gubitak težine veći od 20% od početne težine životinja. Temeljem navedenog životinje će biti svakodnevno vagane i biti pod stalnim nadzorom.		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	Očekuje se da će se razina težine navedenog postupka mijenjati kroz vrijeme, najviše zbog posljedične upale u DSS modelu, očekujemo porast permeabilnosti crijevne stijenke te lakšu translokaciju bakterija koja će dovesti do poremećaja ravnoteže crijevne mikrobiote. Međutim primjenom probiotika i egzopolisaharida očekujemo brzu regeneraciju sluznice crijeva te smanjene pokazatelje životinjskog stresa. S obzirom na svakodnevno praćenje težine, izmijenjene konzistencije stolice, proljeva i nazočnosti krvi u stolici, reagirati ćemo i kontrolirati pokus tako da razina težine pokusa biti UMJERENA Nakon indukcije upalne bolesti crijeva, životinje će biti žrtvovane za uzimanje organa za analizu oksidacijskog stresa, upalnih, genotoksičnih, imunskih i histoloških promjena te cekum debelo crijevo za analizu crijevne mikrobiote. Sve će životinje na kraju pokusa u trajanju od 13 dana biti žrtvovane, te će se izvršiti njihovo neškodljivo uklanjanje i zbrinjavanje lešina.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Temeljem gore navedenog, na kompleksan simbiotski međuodnos između GI-sustava i crijevne mikrobiote domaćina snažno utječe prehrana, probiotici i prebiotici; optimalan odnos između prehrane i crijevne mikrobiote može biti vrlo koristan za probavu hrane, unos hranjivih tvari, te zdravlje imunskog sustava. Na primjer, probiotički pripravci u konačnici utječu na strukturu, organizaciju, ulogu, i naseljavanje određenih mikroorganizama u GI sustavu, modulirajući aktivnost crijevne mikrobiote i njenu ulogu u stimulaciji imunskog sustava, metabolizmu, zaštiti i regeneraciji sluznice. Ova komunikacija doprinosi vezi između mikrobiote probavnog sustava i održavanja crijevne homeostaze uključuju neuralne, humoralne i upalne putove, ovisno o domaćinu i okolišnim čimbenicima. Ovakve međuodnose nije moguće istražiti <i>in vitro</i>.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	U pokusu će se koristiti najmanji mogući broj životinja s obzirom na svrhu istraživanja i s obzirom na opsežnost pokusa i brojne metode uključene za potvrdu pojedinih učinaka.
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.	Životinje u pokusu će se držati u uobičajenim uvjetima za održavanje laboratorijskih životinja (hranjenje, njega) te s obogaćenim okolišem za bolje i kvalitetnije korištenje prostora te materijalima za grizenje, trganje i manipuliranje. Životinje će biti usmrćivane tijekom pokusa u skladu s propisima o dobrobiti životinja (anestezija intraperitonealnom primjenom kombinacije Narketana® Vetoquinol S.A., BP 189 Lure Cedex, Francuska (djelatna tvar Ketamin) i Xylapana® Vetoquinol Biowet Sp., Gorzow, R. Poljska (djelatna tvar Ksilazin) a potom će se životinje iskrvariti).