

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. 1. Tytuł projektu:
2. „**Rola gingipain w aktywacji odpowiedzi układu odpornościowego wywołanego infekcją *Porphyromonas gingivalis***”
3. 2. Czas trwania projektu: **2 LATA**
4. 3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) .

***PORPHYROMONAS GINGIVALIS*, PARADONTOZA, GINGIPAINY, PODSKÓRNY MODEL KOMOROWY**

1. 4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych)

2. **BADANIA PODSTAWOWE**

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, w tym w celu badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Paradontoza to przewlekła choroba zakaźna, na którą cierpi ok 30% populacji na całym świecie. Jednym z kluczowych patogenów indukujących paradontozę jest bakteria *Porphyromonas gingivalis*. Pomimo intensywnych badań wciąż nie znaleziono skutecznego leku na choroby tkanek przyzębia.

Gingipainy to kluczowe i najważniejsze czynniki wirulencji *P. gingivalis*. Te proteazy cysteinowe, wykazują szerokie spektrum swojego działania głównie poprzez osłabienie działania skutecznej odpowiedzi obronnej organizmu.

Znalezienie nowych metod leczenia chorób, których istotnym czynnikiem epidemiologicznym są periodontopatogeny wymaga przeprowadzenia testów *in vivo*. Sprawdzone modele zwierzęce, z wykorzystaniem myszy laboratoryjnych, w przypadku paradontozy w znaczący sposób przypominają warunki panujące w organizmie ludzkim podczas rozwoju choroby.

Głównym celem projektu jest sprawdzenie i porównanie wirulencji szczepu dzikiego *P. gingivalis* W83 z mutantami gingipain, różniących się sposobem ich wydzielania do środowiska i zbadanie wpływu na aktywację układu odpornościowego gospodarza.

Znalezienie mechanizmu patogenności proteaz bakteryjnych pochodzących z *P. gingivalis* jest jednym z celów badań. Cel ten zostanie osiągnięty przez zastosowanie podskórnego modelu komorowego, w którym wywołana

zostanie infekcja bakteryjna (procedura nr 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Proteazy, które bezpośrednio związane są z patogennością bakterii, aktywują układ obronny gospodarza. Używając mysiego modelu będziemy w stanie określić rolę proteaz bakteryjnych na funkcjonowanie układu odpornościowego, który podczas infekcji bakteryjnej *P. gingivalis* ulega dysregulacji prowadząc nie tylko do pogłębiania się choroby, ale również prowadzi do rozwoju chorób systemowych. Przeprowadzone badania pozwolą na określenie nacieku komórek prozapalnych takich jak makrofagi, neutrofile i określenie wydzielanych przez nie mediatorów prozapalnych tj. cytokin, chemokin w odpowiedzi na komórki bakteryjne.

Znalezienie czynników, które odpowiadają za patogenność drobnoustrojów jest kluczowe, aby walczyć ze szkodliwym działaniem drobnoustrojów kolonizujących jamę ustną prowadzących do zapalenia dziąseł i powiązanych z nimi chorób systemowych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz BALB/c, 160 sztuk, samica, wiek: 9-10 tygodni

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zasada zastąpienia

Wyniki badań przy użyciu badań in vitro (hodowli komórkowych) są obiecujące, ale niewystarczające w porównaniu z analizami in vivo. Badania wykonane na zwierzętach dają zwykle bardziej wiarygodne wskazówki na temat mechanizmu rozwoju choroby. Znajomość patogenezы jest niezbędna do opracowania nowych alternatywnych metod leczenia.

Zasada ograniczenia

Obecnie nie istnieją skuteczne metody zapobiegania i leczenia paradontozy, która jak donoszą badania naukowe z ostatnich lat ma wpływ na rozwój chorób serca, płuc i stawów. Doświadczenia na zwierzętach są najlepszą (sprawdzoną) metodą imitującą śledzenie zmian w układzie immunologicznym podczas infekcji periodontopatogenami. Wybrane zwierzęta – myszy BALB/c są specyficznie dobrane do przeprowadzenia i realizacji celu opisanego wcześniej w projekcie doświadczenia.

Ponadto, ze względu na to, że w planowanych eksperymentach konieczne jest stosowanie wysoce inwazyjnych procedur, liczba zwierząt w poszczególnych grupach będzie ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia istotnie statystycznych wyników. W razie nieprzewidzianej śmierci któregoś ze zwierząt, będzie istniała konieczność powtórzeń, aby uzyskać wiarygodne wyniki.

Zasada udoskonalenia

Zwierzęta przez cały czas trwania doświadczenia będą przebywać w klatkach z wentylacją indywidualną (IVC) z ciągłym bezpośrednim dostępem do wody i pożywienia. Wszystkie zwierzęta będą miały zapewnioną przestrzeń życiową o wystarczającym poziomie zróżnicowania. Dodatkowo, odpowiednie warunki bytowania zwierząt będą zapewnione dzięki odpowiednio przeszkolonemu personelowi zwierzętarni.

Czynności operacyjne będą przeprowadzone za pomocą odpowiednich instrumentów i narzędzi medycznych. Zwierzęta po operacji przetrzymywane będą na stołach grzewczych oraz zostanie podany odpowiedni środek przeciwbólowy. Stan zdrowia zwierząt w trakcie trwania procedur będzie monitorowany przez lekarza weterynarii.

