

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „*Porphyromonas gingivalis* jako czynnik etiologiczny chorób systemowych (choroba Alzheimera) oraz jego wpływ na strategie leczenia (inhibitory gingipain *P. gingivalis*)”.

2. Czas trwania projektu 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)

PORPHYROMONAS GINGIVALIS, PARADONTOZA, ALZHEIMER, MODEL MYSI, INHIBITORY GINGIPAIN

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

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, lub 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

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Paradontoza to choroba objawiająca się przewlekłym stanem zapalnym przyzębia. Do tej pory nie udało się znaleźć skutecznych metod jej zapobiegania ani leczenia, dlatego tak ważne jest, aby tę chorobę systemową badać na organizmach żywych. Ponadto, jak donoszą liczne publikacje, obecność paradontozy powiązana jest ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na inne liczne choroby przewlekłe m.in. chorobę Alzheimera.

Głównym czynnikiem odpowiedzialnym za rozwój paradontozy są gingipainy, proteazy cysteinowe bakterii *P. gingivalis*. Sugeruje się, że zastosowanie specyficznych inhibitorów tych enzymów może

pozwolić na zahamowanie rozwoju paradontozy. Ponadto, stosując modele zwierzęce choroby przyzębia, można także obserwować zmiany zachodzące w narządach wewnętrznych, np. w mózgu, płucach, wątrobie, śledzionie, nerkach. Na podstawie tych danych można określić wpływ tych periodontopatogenów na cały organizm.

Eksperyment podzielono na 2 części – ‘Model paradontozy I’ i ‘Model paradontozy II’. Każdy z modeli znacząco naśladuje paradontozę występującą u ludzi. W I modelu niezbędne jest podawanie bakterii *P. gingivalis* przez 8 tygodni, natomiast w przypadku modelu II maksymalnie 6 tygodni. Grupa 5-tygodniowa została wprowadzona, aby sprawdzić stan przyzębia oraz narządów wewnętrznych bezpośrednio przed rozpoczęciem doustnego podawania specyficznych inhibitorów gingipain. Testy behawioralne są niezbędne do oceny szybkości uczenia się i zapamiętywania przez myszy. Pozwolą one określić wpływ podawanych bakterii na działanie mózgu, co umożliwi określenie korelacji paradontozy z chorobami neurodegeneracyjnymi (choroba Alzheimera).

Zastosowanie specyficznych inhibitorów gingipain pozwoli na ocenę zahamowania rozwoju paradontozy, a także choroby Alzheimera, na modelu mysim. Skuteczne działanie takich inhibitorów może się w znacznym stopniu przyczynić do stworzenia leków na choroby przyzębia oraz neurodegeneracyjne.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy Balb/c

400 sztuk (po 200 sztuk na każdy model paradontozy)

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

### **Replacement/Zastąpienie**

Przygotowując opisane wcześniej procedury, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

\_\_EBSCO; \_\_PUBMED; \_\_Google Scholar; \_\_AGRICOLA; \_\_ScienceDirect; \_\_Web of Science (JCR); \_\_

Wykorzystałno słowa kluczowe:

bone loss / oral bone loss / Alzheimer bone loss / Alzheimer oral bone loss / oral bone loss murine / oral bone loss murine p. gingivalis / microbiota periodontitis / Alzheimer oral bone loss murine / Alzheimer oral bone loss murine p. gingivalis

Nie jest możliwe zastąpienie zwierząt laboratoryjnych przez inne alternatywne metody w tym projekcie. Wykorzystanie zwierząt jest konieczne, aby uzyskać dane, dotyczące genetycznych regulacji w tkankach przyzębia, zmian w naturalnej mikroflorze jamy ustnej, zmian powodujących ubytek kości szczęki, a także zmian w obrębie narządów wewnętrznych, takich jak np. mózg – wyniki te pozwolą zrobić krok naprzód w leczeniu chorób przyzębia i/lub równocześnie choroby Alzheimera.

### **Reduction/ Zmniejszenie**

Wszystkie myszy wykorzystane w tym projekcie pochodzić będą z chowu wsobnego, który w znaczący sposób zmniejsza ryzyko różnic osobniczych w eksperymencie. To powoduje, że wykorzystanie 10 myszy/grupy doświadczalne oraz 5 myszy/grupy kontrolne jest wystarczające do przeprowadzenia doświadczenia. We wniosku w grupach doświadczalnych uwzględniono 20 myszy/grupy doświadczalne i 10 myszy/grupy kontrolne ze względu na chęć powtórzenia doświadczenia. Oba powtórzenia dadzą w konsekwencji bardzo wiarygodne wyniki badań *in vivo*.

W eksperymencie określono 3 dawki specyficznych inhibitorów gingipain, które zostaną zastosowane:

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

- I (30-20 mg/kg m.c.),
- II (15-10 mg/kg m.c.),
- III (5-1 mg/kg m.c.).

Zbadanie wpływu tylko trzech różnych dawek wystarczająco zobrazuje, która z dawek jest minimalną do zahamowania rozwoju paradontozy i/lub choroby Alzheimerera.

Zastosowano jedynie dwie grupy kontrolne w obu modelach paradontozy, w których podawane będą specyficzne inhibitory gingipain, gdzie ograniczono się jedynie do podawania dawki I obu inhibitorów. Już dawka I inhibitorów pozwoli stwierdzić, czy występują jakiekolwiek skutki uboczne długotrwałego (7 tygodni) ich stosowania. Nie uwzględniono w badaniach zastosowania pozostałych dawek obu inhibitorów.

### **Refinement/Złagodzenie**

Myszy będą utrzymywane po 4-5 osobników w klatkach w pełni wyposażonych w jedzenie i wodę. 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 przez wykwalifikowane osoby przeprowadzające doświadczenia. Zwierzęta po operacji przetrzymywane będą na stołach grzewczych.

Stan zdrowia zwierząt w trakcie trwania procedur będzie monitorowany przez lekarza weterynarii. Nie przewiduje się, aby którakolwiek z procedur spowodowała ból bądź dyskomfort u myszy. Inhibitory zostały uprzednio przebadane pod względem toksyczności.