

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Bestatyna – nowy lek w terapii zapalenia tkanek przyzębia.

2. Czas trwania projektu: 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): parodontoza, *P. gingivalis*, bestatyna

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, a jej obecność powiązana jest ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na inne przewlekłe choroby. Schorzenie to wywoływane jest głównie przez bakterie zasiedlające kieszonki dziąsłowe, do których należy m.in. *Porphyromonas gingivalis*. Brak higieny prowadzi do tworzenia się kamienia nazębnego oraz płytki nazębnej, która jest głównym miejscem bytowania bakterii patogennych. Dodatkowo, pomiędzy korzeniem zęba, a dziąsłem tworzy się głęboka kieszonka dziąsłowa, która stwarza dobre warunki do rozwoju bakterii. Toksyny powstające w trakcie przemiany materii bakterii osadzają się w dziąsłach. Jednymi z najważniejszych czynników wirulentnych wytwarzanych przez *P. gingivalis* są gingipainy (RgpA, RgpB i Kgp). Enzymy te pełnią kluczową rolę w rozwoju zapalenia przyzębia. Odpowiedzialne są między innymi za zaburzenie reakcji obronnej organizmu, co prowadzi do chronicznego stanu zapalnego tkanek przyzębia, utraty kości wyrostka zębodołowego, a w rezultacie do utraty uzębienia. Dotychczas wykonane badania wykazały, że użycie syntetycznych inhibitorów gingipain jako terapeutyku znacząco hamuje, a nawet cofa ubytek kości szczęki wywołanej infekcją *P. gingivalis*. Postanowiono iść o krok dalej w doborze jak najlepszego potencjalnego środka terapeutycznego i jak donoszą wybrane prace naukowe, bestatyna może znacząco przyczynić się do leczenia paradontozy. Nie

znany jest dokładny mechanizm działania bestatyny, jednak udowodniono, że znacząco hamuje aktywność metaloaminopeptydaz i namnażanie się bakterii *P. gingivalis*.

W projekcie zostanie wykorzystana mysz domowa. Eksperyment będzie polegać na wywołaniu u myszy paradontozy poprzez wielokrotną infekcję tkanek przyzębia bakteriami *Porphyromonas gingivalis*, a następnie podaniu bestatyny, w celu sprawdzenia jej terapeutycznego działania. Skuteczne działanie bestatyny może się w znacznym stopniu przyczynić do stworzenia leków stosowanych w leczeniu chorób przyzębia.

Badania mają pokazać znaczenie bestatyny jako nowego leku, który opóźnia rozwój lub leczy zmiany towarzyszące zapaleniu przyzębia. Jednocześnie pokaże mechanizm w jaki sposób bestatyna wpływa na przeżywalność bakterii *P. gingivalis* w warunkach *in vivo*.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa – 150 sztuk

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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);

Wykorzystano słowa kluczowe: periodontitis / *Porphyromonas gingivalis* / bestatin / mouse

Zgromadzony materiał badawczy pokazuje, że bestatyna może być brana pod uwagę jako potencjalny terapeutyk w leczeniu paradontozy.

Replacement/Zastąpienie

Nie jest możliwe zastąpienie zwierząt laboratoryjnych przez inne alternatywne metody w tym projekcie. Wykorzystanie zwierząt jest konieczne, aby uzyskać dane, dotyczące nowych metod opóźnienia/zahamowania progresji chorób przyzębia oraz leczenia ubytku kości szczęki jako jednego z objawów paradontozy. Nie ma innego sposobu zastąpienia w/w badań *in vivo*. Ze względu na cel projektu nie jest możliwe zastąpienie modelu *in vivo* innymi testami wykorzystującymi układy uproszczone takie jak hodowle komórkowe *in vitro* czy techniki biochemiczne. Żaden inny układ badawczy nie jest w stanie zastąpić badań *in vivo*, które wykorzystując systemowo złożony organizm, jakim jest zwierzę laboratoryjne, pozwala jako jedyny przedstawić w sposób najbardziej wiarygodny aspekty fizjologiczne, immunologiczne, biochemiczne wymienionych stanów chorobowych.

Reduction/ Zmniejszenie

Wszystkie myszy wykorzystane w tym projekcie pochodzą z chowu wsobnego, który w znaczący sposób zmniejsza ryzyko różnic osobniczych w eksperymencie. Do przeprowadzenia badań przewidziano w każdej grupie optymalną liczbę zwierząt, zapewniającą wyjaśnienie postawionego celu. Zaplanowano powtórzenie każdej procedury 3-krotnie, w celu uzyskania powtarzalnych i wiarygodnych

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

wyników. Liczba zwierząt wykorzystana w eksperymencie pokierowana jest niezbędną liczbą grup eksperymentalnych i zredukowana została do minimum. Liczba zwierząt w grupie wynika z obserwacji i danych uzyskanych w testach *in vivo* opisanych w literaturze. Liczba zwierząt w każdej grupie jest liczbą minimalną, która pozwoli na uzyskanie wyników istotnych statystycznie.

Refinement/Złagodzenie

Myszy będą utrzymywane grupowo w klatce w pełni wyposażonej w pokarm, wodę i dodatkowe wzbogacenia środowiska takie jak: kwadratowe drewnianka, wióry z drewna. Dodatkowo, odpowiednie warunki bytowania zwierząt będą zapewnione dzięki odpowiednio przeszkolonemu personelowi zwierzętarni. Eksperyment zaplanowano w sposób maksymalnie redukujący cierpienie zwierząt. Przed rozpoczęciem eksperymentu myszy będą osławiane. Wszystkie czynności jeżeli tylko będą przypuszczenia, że mogą przynieść ból będą wykonywane w znieczuleniu obwodowym. Do wszystkich czynności będą wykorzystywane jałowe, jednorazowe instrumenty, narzędzia. Czynności będą wykonywane w pokoju zabiegowym w warunkach nie przynoszących dodatkowego stresu zwierzętom. Stan zdrowia zwierząt w trakcie trwania procedur będzie monitorowany przez lekarza weterynarii oraz osobę przeprowadzającą doświadczenie. Procedury, w których istnieje przypuszczenie wystąpienie bólu będą wykonywane w znieczuleniu ogólnym. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Dodatkowo, myszy z wyraźnymi objawami bólu i cierpienia poddane zostaną eutanazji. Eksperymentatorzy posiadają wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, dzięki temu wybrane metody przeprowadzenia eksperymentu pozwolą zminimalizować i złagodzić ból i cierpienie oraz postępować ze zwierzętami tak by zapewnić im jak najlepszy standard życia. Po zakończeniu eksperymentu myszy będą uśmiercane zgodnie z opisanymi wytycznymi. Doświadczenie zostało poprzedzone rozeznaniem w piśmiennictwie naukowym (opisane powyżej), wybrano procedury o możliwie najmniejszej inwazyjności, ale spełniające wymagania postawionego celu badawczego, zastosowane techniki i metody są nowoczesne i dostosowane do badanego zagadnienia.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.