

mgr Karina Adamowicz  
Zakład Mikrobiologii  
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii  
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

## **Analiza lokalnego i systemowego stanu zapalnego wywołanego infekcją *Porphyromonas gingivalis***

Chroniczne zapalenie przyzębia, czyli paradontoza, to jedna z najczęściej występujących chorób ludzkości, wynikająca z przewlekłych procesów zapalnych wywołanych patogennym biofilmem na powierzchni zębów poniżej linii dziąseł. Jednym z najważniejszych periodontopatogenów, który uczestniczy w etiologii schorzenia jest Gram-ujemna beztlenowa pałeczka *Porphyromonas gingivalis*. W porównaniu z dokładnie przebadaną rolą czynników wirulencji patogenu w rozwoju paradontozy oraz chorób systemowych, czynniki molekularne gospodarza, które determinują podatność na infekcję *P. gingivalis* są do tej pory bardzo słabo poznane i scharakteryzowane. Z uwagi na to, że *P. gingivalis* nie tylko powoduje rozwój stanu zapalnego tkanek przyzębia, ale również bierze udział w rozwoju chorób systemowych, stąd w niniejszej pracy doktorskiej skupiłam się na sprawdzeniu jakie czynniki molekularne gospodarza i jakie mechanizmy są odpowiedzialne za rozwój infekcji lokalnej, a jakie determinują rozwój chorób systemowych epidemiologicznie i klinicznie powiązanych z paradontozą.

W celu identyfikacji i określenia roli czynników gospodarza w lokalnym stanie zapalnym wywołanym infekcją *P. gingivalis* wykorzystano myszy model paradontozy. Uzyskane wyniki badań wykazały, że pobudzenie receptorów TLR przez *P. gingivalis* stanowi sygnał aktywujący kinazę syntazy glikogenu 3 (GSK3), która jest jednym z kluczowych białek biorących udział w szlaku przekazywania sygnału na drodze PI3K/AKT. W konsekwencji prowadzi to do aktywacji mechanizmów odporności immunologicznej, między innymi poprzez wzmożoną syntezę cytokin prozapalnych (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-1 $\beta$ ), które odpowiedzialne są za powstawanie ubytku okołożębowej tkanki kostnej. Przeprowadzone badania wykazały, iż inhibicja GSK3 chroni myszy przed ubytkiem tkanki kostnej wywołanej przez *P. gingivalis*. Wyniki te potwierdzają wcześniejsze badania *in vitro* nad rolą GSK3 w indukcji paradontozy, a ponadto wskazują na GSK3 jako potencjalny cel opracowania inhibitorów, które będzie można wykorzystać do leczenia i zapobiegania chorobom przyzębia.

Epidemiologiczne, serologiczne i kliniczne badania ostatnich lat wskazują na powiązanie zapalenia przyzębia, a przez to *P. gingivalis* jako głównego periodontopatogena z występowaniem chorób układowych, takich jak: zachłystowe zapalenie płuc czy reumatoidalne zapalenie stawów. Mechanizmy przyczynowo-skutkowe odpowiedzialne za te korelacje nie zostały jak dotąd dobrze scharakteryzowane. Dlatego też, druga część pracy badawczej poświęcona została zbadaniu wpływu paradontozy indukowanej infekcją *P. gingivalis* na rozwój chorób systemowych. W tym celu zweryfikowano czynniki gospodarza, które odpowiedzialne są za indukcję choroby systemowej lub jej brak na przykładzie reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS). Model ten został wybrany między innymi ze względu na podobieństwa parametrów klinicznych charakterystycznych dla patologii obydwu chorób, takich jak tożsamy mechanizm destrukcji tkanek i kości prowadzący do trwałego ich uszkodzenia oraz podobną odpowiedź zapalną. Ponadto, w rozwoju obu chorób dużą rolę odgrywają podobne czynniki środowiskowe, do których zalicza się m.in. palenie papierosów, zakażenia niektórymi wirusami, indywidualne predyspozycje genetyczne oraz nadmierna aktywność układu immunologicznego.

Badania przeprowadzono na czterech różnych szczepach wsobnych myszy DBA/1, DR4, BALB/c, oraz C57/BL/6 z wykorzystaniem trzech różnych modeli zwierzęcych infekcji bakteryjnych, w tym: model komorowy, model dopłucnej infekcji bakteryjnej oraz klasyczny model paradontozy. Uzyskane wyniki jednoznacznie dowiodły, że tło genetyczne myszy oraz wrota zakażenia (droga inokulacji *P. gingivalis*) są kluczowymi czynnikami w rozwoju zapalenia stawów wywołanego przez zakażenie tym periodontopatogenem. Do rozwoju stanu zapalnego w stawach dochodzi tylko w przypadku dopłucnej inokulacji patogenu powodującej subkliniczne zapalenie płuc i tylko u myszy predysponowanych genetycznie do rozwinięcia reumatoidalnego zapalenia stawów. Na reakcję systemową istotny wpływ miało również środowisko bytowania zwierząt i związany z tym skład naturalnej mikroflory.

W reakcję zapalną leżącą u podstaw reumatoidalnego zapalenia stawów są zaangażowane m.in. różne subpopulacje limfocytów T, w związku z tym podjęto próbę zbadania mechanizmu rozwoju zapalenia poprzez określenie generacji subpopulacji limfocytów T (Th17, Th1, Treg) po infekcji *P. gingivalis* w badanym modelu zwierzęcym. Otrzymane wyniki analizy wskazują na szczególną rolę komórek Th17 w patogenezie zapalenia stawów, ponieważ ich procent wzrastał u zainfekowanych myszy i korelował z rozwojem i pogłębieniem się choroby stawów.

Podsumowując infekcja *P. gingivalis* u myszy nie jest schorzeniem ograniczonym tylko do lokalnego stanu zapalnego przyzębia. Moje badania dowiodły po raz pierwszy



bezpośredniego wpływu infekcji *P. gingivalis* na rozwój zapalenia stawów u myszy. Ponadto, wykazałam, że na rozwój paradontozy i powiązanej z nią choroby systemowej, istotny wpływ mają takie czynniki osobnicze, jak: różnica w poziomie kluczowych białek biorących udział w przekazie sygnału komórkowego, profil genetyczny osobników, wrota infekcji czy środowisko życia.

Wyniki uzyskanych badań nabierają większego znaczenia w dobie medycyny spersonalizowanej, która opiera się na przekonaniu, że choroby są heterogeniczne. Kontynuowanie powyższych badań wydaje się więc niezbędne do stworzenia dokładniejszych metod diagnostycznych i dobrania najbardziej skutecznej metody leczenia paradontozy i chorób z nią powiązanych.

