



POLSKA AKADEMIA NAUK
INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII
DOŚWIADCZALNEJ IM. L. HIRSZFELDA
ZAKŁAD IMMUNOLOGII CHOROÓB ZAKAŻNYCH
LABORATORIUM WIRUSOLOGII

Rozprawa doktorska

Analiza współzależności stanu zapalnego przyzębia i choroby
Alzheimera – rola czynników zakaźnych oraz aktywacji
i odpowiedzi obwodowych komórek odpornościowych

mgr inż. Michał Jerzy Ochnik

PROMOTOR: dr hab. Egbert Piasecki, prof. PAN
PROMOTOR POMOCNICZY: dr hab. Marta Sochocka

WROCŁAW, 2024

STRESZCZENIE

Choroba Alzheimera (AD) jest najczęstszą postacią demencji na świecie, która stanowi od 60 do 80% wszystkich jej przypadków. Niestety, wraz z wydłużaniem się średniej długości życia rośnie również liczba przypadków demencji, dla której wiek jest najważniejszym czynnikiem ryzyka. Obecnie AD jest uważana za jedno z najpoważniejszych wyzwań społecznych i ekonomicznych wymagającym pilnej interwencji. Przez wiele dekad w dziedzinie badań nad AD dominowała hipoteza kaskady amyloidu, która wskazywała na główny udział złogów peptydu amyloidu- β (A β) obecnych w mózgu w patofizjologii AD, jednak wyniki ostatnich lat w znaczący sposób zmieniły ten pogląd. Obecnie AD uważana jest nie tylko za chorobę neurodegeneracyjną mózgu, ale również za chorobę układową, ponieważ dotyka zarówno ośrodkowego układu nerwowego jak i procesów ogólnoustrojowych, a zmiany w odpowiedzi zapalnej w mózgu, jak również w adaptacyjnej i wrodzonej odpowiedzi immunologicznej wydają się kluczowe dla pełnego zrozumienia jej przyczyn.

Dodatkowym źródłem cząsteczek zapalnych w mózgu mogą być infekcje, w tym te obejmujące jamę ustną, takie jak zapalenie przyzębia (paradontoza, PeD). W rezultacie PeD i zmiany w składzie mikrobioty jamy ustnej mogą odgrywać kluczową rolę w patogenezie AD. Ze względu na bliskie położenie anatomiczne jamy ustnej i mózgu istnieje możliwość infiltracji mózgu przez periopatogeny jak również ich metabolity. Przyczynia się to do powstawania stanu zapalnego w mózgu, a w konsekwencji aktywacji rezydujących komórek odpornościowych, akumulację patologicznych białek, w tym A β , śmierci neuronów oraz neurodegeneracji. Wstępne badania potwierdzają, że stan zapalny wywołany przez periopatogeny może być jednym z czynników przyspieszających rozwój AD, ale nadal związek tych dwóch zaburzeń nie został w pełni wyjaśniony, co uzasadnia potrzebę dalszych badań w tym obszarze. AD jest przyczyną najwyższej śmiertelności wśród ludzi na całym świecie, dlatego poszerzenie wiedzy na temat roli mikrobiomu jamy ustnej i odpowiedzi immunologicznej w patogenezie AD ma kluczowe znaczenie.

Głównym celem tego badania była kompleksowa analiza współzależności między AD i PeD na poziomie klinicznym, funkcjonowania obwodowych komórek odpornościowych, molekularnym oraz mikrobiologicznym. Zrozumienie tych

mechanizmów jest istotne w celu opracowania nowych, skutecznych terapii zatrzymujących lub opóźniających rozwój choroby. Określenie związku między PeD, aktywacją zapalną i parametrami klinicznymi w AD przeprowadzono z wykorzystaniem modelu izolowanych leukocytów krwi obwodowej (PBLs) *ex vivo*, które poddawano ocenie aktywacji i odpowiedzi odpornościowej na antygeny bakteryjny i wirusowy. W badaniach wykorzystano LPS-u pochodzący z periopatogenu - *Porphyromonas gingivalis* (LPS-PG) oraz wirus indykatorowy VSV (*vesicular stomatitis virus*), za pomocą którego określono poziom wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Następnie przeprowadzono analizę cząsteczek pro- i przeciwzapalnych, a także poziomu ekspresji genów związanych z aktywacją i regulacją odpowiedzi zapalnej. Zbadano również związek między parametrami klinicznymi w AD i polimorfizmami genów związanych z odpowiedzią immunologiczną (fenotyp hiper zapalny) w AD oraz skład gatunkowy mikrobioty jamy ustnej.

Na podstawie analizy parametrów klinicznych stwierdzono, że istnieje ścisły związek między występowaniem AD i paradontozy, a obciążenie stanem zapalnym przyzębia u pacjentów demencyjnych co może istotnie wpływać na pogarszanie się funkcji poznawczych i progresję AD. Przeprowadzone badania pozwoliły ustalić, że w przebiegu AD dochodzi do istotnych zmian w składzie obwodowych komórek odpornościowych, co może być związane z osłabieniem odporności wrodzonej pacjentów. W wyniku zakażenia komórek wirusem indykatorowym VSV pacjenci z AD charakteryzowali się istotnie niższymi stężeniami wydzielonych cytokin prozapalnych w związku z tym można przypuszczać, że cechują się oni ogólnie niższą odpornością wrodzoną niż osoby zdrowe. Nie stwierdzono natomiast, aby obciążenie stanem zapalnym przyzębia było związane z poziomem wrodzonej odporności u osób zdrowych poznawczo. Na poziomie molekularnym obwodowe komórki odpornościowe pacjentów obciążonych AD charakteryzowały się zmniejszonym wytwarzaniem mediatorów zapalnych przy jednocześnie gwałtownej odpowiedzi odpornościowej w odpowiedzi na antygen bakteryjny (LPS-PG). Zaobserwowano znacznie większy wyrzut mediatorów stanu zapalnego u osób z AD niż u osób kognitywnie zdrowych, co może wskazywać, że komórki pacjentów z AD ulegają hiperaktywacji. Dodatkowo, zwiększona ekspresja genu *AP-1* wśród pacjentów AD może wiązać się z nasileniem stanu zapalnego przyzębia czym można tłumaczyć większą ekspresję cytokin w odpowiedzi na LPS-PG.

Zaobserwowano także różnice w składzie mikrobioty jamy ustnej między osobami zdrowymi poznawczo a chorymi z AD. Pacjenci z AD charakteryzowali się wyższym udziałem bakterii *Bacteroidetes* i niższym *Proteobacteria* niż osoby zdrowe poznawczo.

Przeprowadzone badania potwierdzają, że paradontoza (PeD) jako choroba infekcyjna i zapalna, jest dodatkowym, znacznym, obciążeniem dla układu odpornościowego pacjentów cierpiących na AD, co wpływa na ogólną kondycję i status obwodowych komórek odpornościowych oraz powoduje utrzymywanie się przewlekłego ogólnoustrojowego stanu zapalnego o niskim nasileniu. Dlatego priorytetem w dziedzinie zdrowia psychicznego powinno być wdrożenie diagnostyki stanu zapalnego przyzębia (paradontozy) wśród osób z zaburzeniami funkcji poznawczych oraz demencją, zwłaszcza typu alzheimerowskiego (AD). Należy także rozważyć włączenie leczenia paradontozy na stałe do protokołu leczenia/postępowania z pacjentami demencyjnymi, ale także z osobami wykazującymi łagodne zaburzenia poznawcze a personel medyczny tj. pielęgniarki, lekarze psychiatry oraz stomatolodzy powinni być szkoleni oraz na bieżąco informować pacjentów o koniecznej profilaktyce paradontozy, aby uniknąć przyszłych konsekwencji dla zdrowia psychicznego.