

Wśród chorób przyzębia najbardziej popularna jest paradontoza (zapalenie przyzębia). Schorzenie rozpoczyna się, gdy płytka bakteryjna gromadzi się na przydziąsłowej powierzchni zębów i powoduje przewlekły stan zapalny. Prowadzi to do degradacji więzadeł przyzębnych, resorpcji kości zębodołowych, formowania głębokich kieszonek dziąsłowych i uszkodzenia struktur podtrzymujących zęby. Ostrej formy choroby nie można skutecznie wyleczyć, a stany zaawansowane są nieodwracalne. Ponadto, paradontoza została powiązana z niepomyślnym przebiegiem ciąży, chorobami układu krążenia, reumatoidalnym zapaleniem stawów, zachyłkowym zapaleniem płuc i cukrzycą. Paradontoza dotyka około 90% dorosłej populacji świata. A zatem ma poważny wpływ na zdrowie publiczne oraz koszty leczenia.

Głównym czynnikiem etiologicznym paradontozy jest konsorcjum bakterii złożone z gatunków *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* i *Treponema denticola*. Za kluczowy czynnik chorobotwórczy uważane są bakterie gatunku *P. gingivalis*, które produkują dużą liczbę czynników wirulencji, odpowiedzialnych za powstawanie i postęp choroby. Najważniejsze i najlepiej poznane są enzymy proteolityczne (in. proteazy), gingipainy, odpowiedzialne za początkową kolonizację, zdobywanie składników odżywczych i unikanie przez bakterie obrony immunologicznej organizmu gospodarza.

Badania wykryły obecność innych genów kodujących domniemane enzymy proteolityczne w genomie *P. gingivalis*. Jednym z nich jest aktywna proteaza, nazwana Tpr, opisana przez nas wstępnie we wcześniejszych badaniach. Enzym ten, jest przypuszczalnie ważnym czynnikiem wirulencji, pełniącym kluczową rolę w interakcjach między patogenem a organizmem gospodarza, co czyni go bardzo atrakcyjnym celem dla dalszych badań. Udowodniliśmy, że Tpr degraduje kilka istotnych substratów fizjologicznych, takich jak fibrynogen i fibronektyna (powszechne w płynie mięszu dziąseł) czy kluczowe elementy wrodzonego systemu immunologicznego. Dlatego przypuszczamy, że proteaza Tpr bierze udział w wirulencji *P. gingivalis*, nie tylko poprzez generowanie składników odżywczych, ale także poprzez unikanie systemu obronnego gospodarza.

Co ciekawe, dalekie podobieństwo sekwencji aminokwasowej sugeruje przynależność Tpr do rodziny kalpain, co jest niezwykle dla prokariotów. Autoaktywacja i aktywność enzymu Tpr zależą od obecności wapnia. Zbadaliśmy także możliwość hamowania aktywności Tpr przez ludzkie inhibitory proteaz cysteinowych, cystatyny. Co zaskakujące, zaobserwowaliśmy wydajną inhibicję Tpr przez cystatyny A, C i D. To pierwszy przypadek zahamowania bakteryjnej proteazy przez cystatyny. Zdecydowanie warto zbadać mechanizm tej niezwyklej interakcji, szczególnie biorąc pod uwagę, że naturalne inhibitory proteaz mogą umożliwić ukierunkowane leczenie paradontozy poprzez celowanie w enzymy proteolityczne.

Ważnym etapem w charakterystyce białek, a szczególnie enzymów, jest opisanie ich struktury przestrzennej. W naszym projekcie planowane jest przeprowadzenie szczegółowej analizy strukturalnej, aby wyjaśnić mechanizmy zależnych od wapnia autodegradacji i enzymatycznej aktywności Tpr. Ponadto, warto zbadać interakcję pomiędzy ludzkimi cystatynami i bakteryjną, podobną do kalpajny, proteazą Tpr, ponieważ jest to bardzo nowatorski, wcześniej nieopisany aspekt potencjalnej roli cystatyn w utrzymaniu homeostazy w przyzębiu i jamie ustnej. Dlatego planowane jest przeprowadzenie badań kinetycznych i enzymatycznych, by opisać istotę tej interakcji.

Podsumowując, dokładnie zbadamy strukturę Tpr, specyficzność substratową, a zwłaszcza hamowanie enzymu przez cystatyny. Przełomowy charakter tego projektu wynika z faktu, iż niewiele wiadomo o innych niż gingipainy proteazach *P. gingivalis*. Wszystkie uzyskane wyniki rozszerzą naszą wiedzę o patogennym działaniu i czynnikach wirulencji tej bakterii. Ponieważ gingipainy są głównymi czynnikami wirulencji *P. gingivalis*, uważamy, że charakterystyka kolejnej proteazy może prowadzić do opracowania nowych metod terapeutycznych, poprzez blokowanie ogólnej aktywności proteolitycznej tego patogenu.