STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Istotnym elementem pierwszej linii obrony immunologicznej organizmu przed infekcją są peptydy przeciwbakteryjne (PPB) stanowiące istotny element wrodzonej odporności u ludzi. Charakteryzują się one szerokim zakresem działania przeciwdrobnoustrojowego. PPB ze względu na właściwości, budowę, funkcje oraz mechanizm działania zostały podzielone na kilka grup, a dwie główne to: defensyny i katelicydyny. U człowieka wykazano dotychczas obecność tylko jednego peptydu z grupy katelicydyn – peptydu LL-37, uwalnianego z katelicydyny – hCAP 18 pod wpływem proteazy serynowej. Liczne badania wskazują, że ludzki peptyd LL-37 charakteryzuje się szerokim spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego, przeciwnowotworowego oraz immunomodulującego. Aktywność endogennych peptydów stała się inspiracją do poszukiwania nowych czynników przeciwbakteryjnych o zbliżonym, niespecyficznym gatunkowo, błonowym mechanizmie działania. Szczególnie interesującą grupę związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym stanowią syntetyczne analogi kationowych peptydów przeciwbakteryjnych - cerageniny (CSAs) - pochodne kwasu cholowego. Podobne jak PPB, posiadają dodatni ładunek powierzchniowy dzięki któremu oddziałują elektrostatycznie z negatywnie naładowaną powierzchnią bakterii, wirusów, grzybów i pierwotniaków. Po insercji w strukturę lipidową błony mikroorganizmów zaburzają jej strukturę i funkcję, co w efekcie prowadzi do śmierci komórki.

Celem rozprawy doktorskiej była ocena bakteriobójczego działania peptydu LL-37 oraz jego syntetycznych analogów z rodziny ceragenin w stosunku do szczepów laboratoryjnych i klinicznych izolatów *Pseudomonas aeruginosa*. Powyższe badania umożliwiły określenie potencjału ceragenin w zwalczaniu infekcji spowodowanych przez wielolekooporne szczepy pałeczki ropy błękitnej.

Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem peptydu przeciwbakteryjnego LL-37, konwencjonalnych antybiotyków, ceragenin (CSA-13, CSA-131) oraz polielektrolitów, zarówno uwalnianych z uszkodzonych komórek gospodarza (DNA, F-aktyna), jak i produkowanych przez bakterie (bakteriofag Pf1). Celem przeprowadzenia badań wykorzystane zostały szczepy 1) *Pseudomonas aeruginosa* izolowane z plwociny pacjentów chorych na mukowiscydozę; 2) *P. aeruginosa* Xen 5, bioluminescencyjny szczep, który posiada w swoim chromosomie stabilną kopię operonu lux pochodzącego z *Photorhabdus luminescens*; 3) hiperwirulenty szczep *P. aeruginosa* LESB58.

Ocena aktywności przeciwbakteryjnej badanych związków została wykonana w stosunku do formy planktonicznej bakterii, jak i biofilmu wytwarzanego przez *P. aeruginosa*. Wykonano oznaczenie minimalnego stężenia hamującego (MIC) wzrostu bakterii pod wpływem działania związków w różnych stężeniach, jak i również minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC). W celu dokładniejszej oceny działania przeciwbakteryjnego badanych związków, przeprowadzono test zliczania kolonii (tzw. „killing assay"). Powyższy eksperyment wykonano również w obecności polielektrolitów takich jak DNA, F-aktyna oraz bakteriofaga Pf1. Celem zobrazowania powierzchni komórek po działaniu badanych związków przeciwbakteryjnych wykonano analizę topograficzną bakterii z użyciem mikroskopu sił atomowych.

Przeprowadzone badania wykazały, iż cerageniny wykazują znacznie silniejszą aktywność przeciwbakteryjną wobec klinicznych, wysoce opornych szczepów *P. aeruginosa*, jak również przeciw hiperwirulentnemu szczepowi LESB58, w porównaniu do naturalnego peptydu LL-37, czy konwencjonalnych antybiotyków. Istotnym wynikiem jest znaczne zahamowanie aktywności bakteriobójczej peptydu LL-37 w obecności oczyszczonego bakteriofaga Pf1, który jest wytwarzany przez niektóre szczepy *P. aeruginosa*. Przeciwnie, aktywność kationowych lipidów przeciwbakteryjnych CSA-13 i CSA-131 nie została istotnie zmniejszona w obecności tego polianionowego wirusa. Zaobserwowaliśmy również, iż CSA-13 oraz CSA-131 skutecznie zapobiegają tworzeniu się biofilmu przez *P. aeruginosa* LESB58, którego synteza jest znacznie pobudzana w obecność bakteriofaga Pf1.

Uzyskane wyniki badań wskazują na możliwość wykorzystania syntetycznych analogów naturalnych peptydów przeciwbakteryjnych z grupy ceragenin w terapii zakażeń wywołanych przez lekooporne szczepy pałeczek Gram-ujemnych, a także uzasadniają kontynuowanie dalszych badań w tym obszarze.