

Odkrycie, w latach dwudziestych XX wieku, pierwszego antybiotyku penicyliny zrewolucjonizowało ówczesną medycynę, dając początek wieloletniej terapii antybiotykowej oraz pozwoliło na zwalczanie wielu groźnych chorób zakaźnych. Obecnie, po prawie stu latach od przełomowego odkrycia dokonanego przez A. Fleminga, dysponujemy arsenałem najnowocześniejszych antybiotyków, doskonalonych w trakcie wieloletnich badań. Jednak powszechne ich wykorzystanie, nie tylko w leczeniu chorób, ale również w prewencji chorób zwierząt konsumpcyjnych, którym w wielu krajach podaje się małe dawki antybiotyków w celu podniesienia masy, doprowadziło do wykształcenia przez niektóre szczepy bakterii oporności, dzięki której one przetrwać w obecności antybiotyku. Spowodowane jest to bądź naturalną odpornością danego szczepu bakterii na dany lek, spowodowaną ich budową, lub na skutek mutacji bądź nabicia genów odporności od innych bakterii.

Jedną z bakterii wykrztałcającą antybiotykooporność są prątki gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*) powodujące, zapomnianą od wielu lat, gruźlicę. Niestety szybka adaptacja patogenu do warunków środowiska powoduje wzrost zachorowań oraz wysoką śmiertelność. Światowa organizacja zdrowia szacuje, że obecnie jedna trzecia populacji planety zarażona jest gruźlicą, z czego tylko w 2014 roku przybyło 9.6 mln nowych przypadków choroby. Śmiertelność natomiast wyniosła w 2014 roku 1.5 mln, wykazując znaczny wzrost w porównaniu do roku 2012 (0.9 mln przypadków śmiertelnych). Dodatkowo gruźlica stała się poważnym problemem u ludzi cierpiących na zaburzenia odporności, spowodowane np. występowaniem wirusa HIV. *M. tuberculosis* jest obecnie najczęstszą przyczyną śmierci osób chorych na AIDS, która w roku 2014 obejmowała jedną trzecią wszystkich zgonów spowodowanych wirusem HIV. Drugą bakterią, która wykazuje antybiotykooporność jest gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*), zwany obecnie MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*), który jest odpornym na metycilinę szczepem gronkowca. Występuje on u części populacji na błonie śluzowej nosa, nie powodując żadnych objawów. Często jednak dochodzi do postępującego zakażenia, najczęściej skóry czy błon śluzowych, które ze względu na wysoką przeżywalność patogenu w środowisku zawierającym antybiotyki, mogą prowadzić do zagrażającej życiu sepsy. Średnia roczna zachorowalność wynosi około 80000 przypadków, z których 12000 są śmiertelne. Niewykluczone, że gronkowiec będzie narastającym problemem ze względu na coraz częstsze infekcje szpitalne i coraz większą trudność w terapii zakażeń.

W proponowanych przez nas badaniach, nie planujemy odkrycia nowego antybiotyku. Naszym celem jest poznanie podstawowych interakcji pomiędzy patogenem oraz zakażonym organizmem, jak również mechanizmów występujących w układzie odporności nieswoistej w trakcie zakażenia bakteryjnego. Pragniemy znaleźć czynnik pozwalający na modulację układu odporności nieswoistej, który wspomógłby terapię antybiotykową oraz pozwolił na szybsze zwalczenie infekcji spowodowanych przez antybiotykooporne szczepy bakterii. Proponowanym przez nas czynnikiem modulującym odpowiedź nieswoistą jest galanina, peptyd produkowany m.in. przez komórki układu nerwowego. Dotychczasowe badania potwierdzają, że galanina jest ważnym czynnikiem biorącym udział w zapaleniu oraz infekcji bakteryjnej.

W niniejszym projekcie chcemy, po raz pierwszy, zdefiniować rolę galaniny w trakcie systemowej infekcji bakteryjnej, określić jej wpływ na odpowiedź immunologiczną oraz potencjalne możliwości jako modulatora komórek układu odporności nieswoistej. Do tego celu chcielibyśmy użyć larw ryby z gatunku danio pręgowanego (*Danio rerio*). Danio pręgowany jest obecnie coraz popularniejszym modelem używanym w różnych badaniach laboratoryjnych, wynika to głównie z możliwości odniesienia wyników badań do wyższych kręgowców w tym ludzi, jak również łatwości tworzenia nowych linii. W swoich badaniach chcielibyśmy użyć specjalne linie danio pręgowanego, które wykazują zahamowaną produkcję galaniny oraz nadmierne wydzielanie tego peptydu. Dodatkowo embriony *D. rerio* mogą być zarażone różnymi bakteriami w tym gronkowcem złocistym, jak również prątkami gruźlicy. Do badań nad gruźlicą wykorzystywany jest naturalny patogen ryb *Mycobacterium marinum*, który jest bliskim kuzynem ludzkiego *M. tuberculosis*. Znaczone fluorescencyjnie bakterie razem z fluorescencyjnymi komórkami układu odporności nieswoistej pozwalają na dokładne śledzenie interakcji pomiędzy patogenem a komórkami gospodarza. Dodatkowo transparentna skóra larw danio pręgowanego umożliwia dokładną analizę rozwoju infekcji pod mikroskopem fluorescencyjnym. Pozwala to również na wykorzystanie nowoczesnych technik laboratoryjnych jak cytometria przepływowa, umożliwiającą oszacowanie poziomu infekcji u zarażonych larw. Oprócz wpływu galaniny na przebieg infekcji, pragniemy również, za pomocą techniki ilościowej amplifikacji DNA, określić wpływ galaniny na funkcje komórek układu odpornościowego: makrofagów oraz neutrofilii.

Obecne problemy w terapii antybiotykowej wymagają nowych przedsięwzięć prowadzących do ulepszenia obecnych metod leczenia, które będą z drugiej strony minimalizować możliwość adaptacji bakterii do wykorzystywanych leków. Niniejszy projekt oparty jest o możliwości immunomodulacyjne galaniny, jako możliwego czynnika wspomagającego obecną terapię zakażeń bakteryjnych, które są coraz trudniejsze do zwalczenia.