

Badania nad wykorzystaniem nowych analogów endogennych peptydów w terapii infekcji skórnych o etiologii gronkowcowej

Skórne infekcje z udziałem gronkowców należą do najtrudniejszych w leczeniu w aspekcie klinicznym. *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty) jest uznany za jeden z wiodących patogenów odpowiedzialnych za schorzenia układu oddechowego, skóry, tkanek miękkich i kości. Oszacowano, że w Stanach Zjednoczonych na infekcje gronkowcowe rocznie zapada ok. pół miliona osób, a koszt ich leczenia w 2003 roku wyniósł 14 bilionów dolarów. Bakterie tego gatunku wytworzyły szereg mechanizmów umożliwiających im wtargnięcie do organizmu, unikanie opsonizacji przez przeciwciała oraz układ dopełniacza, zaburzenie chemotaksji oraz lizę neutrofilii. Z uwagi na zdolności drobnoustroju do przetrwania wewnątrz leukocytów, infekcje te mają tendencje do przechodzenia w stan przewlekły oraz nawracania po wyleczeniu. Niejednokrotnie terapia trwa wiele lat, a bywa nawet bezskuteczna. Dodatkowym, utrudnieniem terapii jest formowanie biofilmu – zorganizowanych trójwymiarowych struktur charakteryzujących się znaczną opornością na stosowane antybiotyki. Szacuje się, że około 65% infekcji szpitalnych jest związanych z formowaniem tego typu struktur.

Niewłaściwe stosowanie oraz nadużywanie antybiotyków indukuje pojawianie się szczepów opornych na tradycyjnie stosowane antybiotyki. Do najgroźniejszych z nich należą: metycylinooporny gronkowiec złocisty (metycilline-resistant *S. aureus*, MRSA), gronkowce koagulazo-ujemne (coagulase-negative staphylococci, CNS), niewrażliwe na penicylinę pneumokoki oraz wankomycynooporne enterokoki (vancomycin resistant enterococci - VRE). Gronkowiec złocisty stanowi szczególnie trudny problem kliniczny z uwagi na jego niebywałe zdolności zdobywania oporności na stosowane antybiotyki. Zdecydowana większość izolowanych szczepów *S. aureus* charakteryzuje się opornością na penicylinę oraz ampicylinę. Skuteczniejsze są penicyliny półsyntetyczne oraz cefalosporyny. Ponadto, w ostatnich latach zaobserwowano nasilenie zjawiska narastania oporności na klindamycynę oraz erytromycynę wśród szczepów izolowanych ze zmian skórnych. Znane są również przypadki wytworzenia mechanizmów oporności na mupirocynę oraz kwas fusydowy, które obecnie uważa się za najskuteczniejsze związki przeciwgronkowcowe. Dużym zaskoczeniem było pojawienie się opornych na wankomycynę szczepów *S. aureus* – VRSA, które wyizolowane zostały z przewlekłych owrzodzeń żylnych. Pojawiły się też pierwsze doniesienia o oporności VRSA na linezolid i streptograminy. W zaistniałej sytuacji wankomycyna przestała być postrzegana jako niezawodny lek ostatniej szansy przeciwko wszystkim klinicznie istotnym bakteriom Gram-dodatnim. Na przestrzeni ostatnich lat pojawiły się nowe antybiotyki glikopeptydowe: telavancyna, dalbavancyna, otrivancyna oraz skuteczne w stosunku do MRSA antybiotyki β -laktamowe: ceftarolina i ceftobiprol. Niemniej jednak są to leki systemowe obdarzone dość dużą ilością działań niepożądanych, a ich stosowanie jest dość kosztowne. Biorąc pod uwagę fakt, że większość skórnych infekcji bakteryjnych wymaga terapii miejscowej kluczowe jest poszukiwanie nowych związków o takim zastosowaniu. Nie bez znaczenia jest też zdolność do eradykacji biofilmu bakteryjnego, którą posiadają proponowane peptydy przeciwdrobnoustrojowe.

Wykonawcy niniejszego projektu postawili sobie za cel zaprojektowanie, otrzymanie oraz gruntowne przebadanie analogów endogennych peptydów przeciwdrobnoustrojowych takich jak LL37, ludzka laktoferycyna oraz ich koniugaty z lipopeptydami pod kątem możliwości wykorzystania ich w terapii chorób skóry powodowanych przez gronkowce.

Wszystkie otrzymane peptydy zostaną poddane badaniom mikrobiologicznym, które obejmować będą oznaczenia na szczepach klinicznych oraz referencyjnych. Te pierwsze pozyskane zostaną od pacjentów ze zdiagnozowanymi infekcjami skórnymi. Ponadto, uwzględniony zostanie wpływ badanych związków na struktury biofilmu, a uzupełnienie analiz mikrobiologicznych stanowiąc będą testy indukcji oporności. Zbadana zostanie toksyczność otrzymanych związków wobec linii komórkowych ludzkich keratynocytów i fibroblastów. Następnie przeprowadzone będą badania konformacyjne celem poznania ich budowy przestrzennej oraz odnalezienia cech odpowiedzialnych za ich specyficzne właściwości. Dodatkowo, przy wykorzystaniu różnych technik wykonane zostaną badania oddziaływań peptyd-lipid. Po określeniu zależności struktura – aktywność, dla wybranych peptydów przeprowadzone zostaną badania stopnia przenikania przez skórę. Na podstawie uzyskanych wyników badań określone zostaną potencjalne możliwości wykorzystania zbadanych peptydów w leczeniu chorób skóry wywoływanych przez gronkowce.