

Zachłystowe zapalenie płuc jest schorzeniem płuc wynikających z niekontrolowanej aspiracji treści żołądka lub jamy ustnej. Ma ono zwykle etiologię bakteryjną, z udziałem zarówno bakterii tlenowych jak i beztlenowych. Dotyka ono zwykle dzieci i osób starszych, mających trudności z przelknięciem lub chorych poddawanych częstym inhalacjom lub intubacji w trakcie leczenia szpitalnego. Warunki te prowadzą do ułatwionego kontaktu bakterii z tkanką płucną i rozwoju infekcji. Nadmierna kolonizacja jamy ustnej przez bakterie, wirusy czy drożdżaki, wynikająca z niewłaściwej higieny jamy ustnej lub występujących w jej obrębie schorzeń, w tym chorób przyzębia, może stać się źródłem niechcianych kolonizatorów dróg oddechowych.

Rozwój diagnostyki w ostatnich latach pozwolił na dokładną identyfikację mikroorganizmów pojawiających się w płucach w wyniku różnego typu infekcji, w tym zachłystowego zapalenia płuc. W infekcjach tych wśród szeregu bakterii wykrywano także obecność beztlenowej bakterii zasiedlającej przyzębie i prowadzącej do paradontozy – *Porphyromonas gingivalis*, która często jest przyczyną wielu innych schorzeń, w tym chorób serca, reumatoidalnego zapalenia stawów czy - jak obecnie się wskazuje choroby Alzheimera. Stąd zainteresowania jej obecnością także w infekcjach płucnych.

Innym kolonizatorem jamy ustnej, którego obecność także potwierdzono w zachłystowym zapaleniu płuc są drożdżaki z rodzaju *Candida*. Mogą one występować w różnych formach - komenslanej i patogennej, zależnie od warunków środowiskowych, w tym głównie od odporności immunologicznej gospodarza. W zachłystowym zapaleniu płuc *Candida* na ogół wykrywana była sporadycznie w formie inwazyjnej, a jej częsta obecność w próbkach pobieranych z płuc traktowana była jako przypadkowe zanieczyszczenie powodowane pobraniem. Obecny postęp metodyczny badań wskazuje jednak że jej patogenne własności mogą także mieć znaczenie w rozwoju infekcji powodowanym stanem zachłystowym.

Badania ostatnich lat wskazują, że liczne infekcje wywoływane przez mikroorganizmy są infekcjami wielogatunkowymi, w których mikroorganizmy mogą formować tzw. biofilm, będący formą ich wzajemnej ko-egzystencji bazującej na współpracy lub konkurencji w zasiedlaniu zaatakowanej niszy organizmu. Co najistotniejsze, w obrębie takiego mieszanego biofilmu wytwarzana jest tzw. macierz, zbudowana ze składników ściany komórkowej mikroorganizmów lub nawet ich białek cytozolowych, pełniących tu dodatkowe, ochronne funkcje. Otoczone macierzą mikroorganizmy tworzą sprzyjające dla siebie środowisko, jak to ma miejsce w przypadku *Candida albicans*, które tworzą środowisko dla bakterii beztlenowych, obniżając zawartość tlenu w biofilmie mieszanym do poziomu zapewniającego żywotność *P. gingivalis*. Co bardzo istotne, ten rodzaj protekcji, prowadzi do nieskutecznych terapii antybakteryjnych czy antymykotycznych, utrudniających leczenie różnych schorzeń, w tym zachłystowego zapalenia płuc. Proponowane do tej pory terapie anty-drobnoustrojowe brały pod uwagę infekcje jednogatunkowe lub tylko bakteryjne. Natomiast fakt budowania przez mikroorganizmy protekcyjnego biofilmu skłania do poszukiwań skutecznych terapii, bazujących na wiedzy dotyczącej mechanizmów ochronnych i kooperacyjnych mikroorganizmów jako przyszłych celów terapeutycznych.

Stąd celem niniejszego projektu jest zbadanie w jaki sposób wpływają na organizm gospodarza składniki macierzy biofilmu i czy zachodzi modyfikacja jej składu w bezpośrednim kontakcie z gospodarzem, jako rodzaj dostosowania do środowiska. Po określeniu tych mechanizmów weryfikowany będzie wpływ działania antybiotyków i antymykotyków na wskazane zależności, w celu określenia czy taka selektywna terapia będzie skuteczna, czy wręcz przeciwnie, sprzyjąc będzie nadmiernemu rozwojowi patogenu odpornego na tę terapię.

W projekcie zaplanowano zatem stworzenie trójwymiarowego modelu komórkowego, który wykazywałby podobieństwo do tkanki płucnej gospodarza pod względem kontaktów międzykomórkowych, ścieżek sygnałowych i ekspresji genów. Taki model stosowany będzie do charakterystyki postępu infekcji mieszanej z możliwością wytwarzania biofilmu, oraz do testowania wpływu terapii anty-drobnoustrojowej. Najciekawsze obserwacje zostaną potwierdzone w mysim modelu zachłystowego zapalenia płuc. Wśród analizowanych składników macierzy, na szczególną uwagę zasługują drożdżowe glukany i chityna, które mogą podlegać zmianom pod wpływem czynników bakteryjnych czy działań enzymatycznych ze strony gospodarza. Protekcyjną rolę może pełnić także zewnątrzkomórkowe bakteryjne DNA, natomiast nieznanne jest znaczenie drożdżowego, niekodującego DNA, zwłaszcza jego wpływ na komórki gospodarza. Ponadto w obrębie biofilmu występują zewnątrzkomórkowe pęcherzyki niosące w swoim składzie szereg białkowych czynników wirulencji – znaczenie takich pęcherzyków drożdżowych w infekcjach mieszanych także wymaga zbadania. Rola wszystkich wskazanych składników matrycy zostanie zweryfikowana w kontekście zastosowania antybiotyko- i antymykotykoterapii oraz zostaną podjęte próby znalezienia kombinacji wybranych leków o obiecującej skuteczności. Wymiernym efektem przeprowadzonych badań będzie poznanie mechanizmów ko-infekcji zachodzących z udziałem drożdżaków w zachłystowym zapaleniu płuc, oraz wskazanie elementów biofilmu mieszanego jako celów terapeutyczny. Zaproponowane rozpoznania działania antybiotykoterapii kombinowanej z antymykotyczną pozwoli na weryfikację dotychczasowych procedur medycznych, stosowanych w leczeniu zachłystowego zapalenia płuc i innych schorzeń tego typu.