

Szacuje się, że infekcje grzybicze skóry, paznokci i włosów występują u niemal miliarda osób rocznie, u wielu milionów rozwijają się zakażenia grzybicze błon śluzowych, natomiast ponad 150 milionów ludzi cierpi z powodu poważnych choroby grzybowych, które w sposób bezpośredni zagrażają ich życiu. W większości przypadków zakażenia grzybicze są wywoływane przez drożdże z rodzaju *Candida* spp. i nazywane są kandydozami. Kandydozy mają zwykle charakter endogenny (wywoływane są przez organizmy stanowiące florę fizjologiczną). Do ich rozwoju dochodzi w okresie, w którym w organizmie gospodarza pojawiają się zaburzenia w funkcjonowaniu układu odpornościowego, spowodowane na przykład: stosowaniem terapii immunosupresyjnej lub przeciwnowotworowej, długotrwałym leczeniem antybiotykami przeciwbakteryjnymi o szerokim spektrum, zażywaniem narkotyków, chorobą AIDS czy cukrzycą. Pomimo dużej częstotliwości występowania infekcji grzybiczych liczba dostępnych aktualnie leków stosowanych w terapii tego typu chorób jest bardzo ograniczona. Istotnym problemem jest to, że wszystkie leki stosowane w terapii kandydoz zaliczane są do czterech podstawowych klas chemicznych: polienów, azoli, echinokandyn, alliloamin, w praktyce klinicznej stosuje się też 5-fluorocytozynę. Tak niskie zróżnicowanie chemiczne skutkuje na przykład szybkim rozwojem mechanizmów oporności na te leki. Istnieje, więc pilna potrzeba poszukiwania nowych środków i substancji, które mogłyby być stosowane w terapii zakażeń grzybiczych. Wyniki badań wstępnych przeprowadzonych w naszym zespole wykazały znaczny potencjał przeciwgrzybowy ekstraktów etanolowych propolisu pszczelego (EEPs – z ang. ethanolic extracts of propolis) pozyskiwanego w polskich pasiekach. Propolis jest lepka, żywiczną substancją o złożonym składzie chemicznym, którą pszczoły zbierają z pąków kwiatów i liści. Niektóre z jego składników, głównie polifenole i flawonoidy, wykazują wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową. W konsekwencji pszczoły używają tego produktu do dezynfekcji ula. Nasze wstępne badania wykazały także synergiczny efekt polskiego propolisu w połączeniu z flukonazolem i worykonazolem oraz wyższy potencjał przeciwgrzybiczy próbek propolisów o wysokiej zawartości flawonoidów. Pomimo wielu niewątpliwych zalet stosowanie etanolowych ekstraktów propolisu (EEPs) do leczenia chorób zakaźnych, w tym kandydoz, jest bardzo ograniczone. Najważniejsze czynniki, które w rzeczywistości eliminują propolis z praktyki klinicznej, to: istotne różnice w zawartości składników aktywnych (które nie są jeszcze ostatecznie poznane), nieznanne mechanizmy aktywności biologicznej, drażniące właściwości EEPs (konsekwencja wysokiego stężenia etanolu, zwykle 70% v / v) i utrudniony transport aktywnych składników EEPs do komórek (przez błony biologiczne). Głównym celem powyższego projektu jest rozwiązanie problemów, które aktualnie ograniczają możliwości stosowania tego produktu w terapii chorób infekcyjnych w tym kandydoz. Identyfikacja składników aktywnych zostanie przeprowadzona w oparciu o analizy statystyczne – badanie korelacji pomiędzy składem chemicznym a potencjałem przeciwgrzybowym próbek EEPs. Badania mechanizmów molekularnych składników propolisu prowadzone będą w szczególności w odniesieniu do ściany i błony komórkowej, transporterów lekowych, procesów tworzenia biofilmu i wzrostu w postaci form mycelialnych. Wyniki naszych wstępnych analiz wskazują, że są to najbardziej prawdopodobne cele molekularne (targety) składników chemicznych propolisu (CIEEPs z ang. crucial ingredients of ethanolic extracts of propolis). Badania prowadzone będą z wykorzystaniem nowoczesnych technik badawczych: mikroskopii konfokalnej i fluorescencyjnej) oraz cytometrii przepływowej. Wpływ propolisu i jego składników na poziom ekspresji genów kodujących najważniejsze czynniki wirulencji *Candida* spp. badany będzie za pomocą techniki Real-time PCR (PCR w czasie rzeczywistym) oraz sekwencjonowania RNA. Z punktu widzenia możliwości zastosowania propolisu (i jego składników) w praktyce klinicznej szczególnie istotne byłoby zidentyfikowanie składników tego produktu, które wykazują synergizm z konwencjonalnymi środkami przeciwgrzybiczymi, głównie z grupy azoli. Stosowanie kombinacji tych środków mogłoby zahamować proces nabywania odporności drożdży w stosunku do tej grupy leków, które obecnie są lekami z wyboru w leczeniu większości kandydozy. W celu wyeliminowania problemów związanych z silnymi właściwościami drażniącymi EEPs planowane jest przygotowanie nowych formułacji propolisu – zawiesiny nanocząstek tego produktu w wodzie oraz ekstrakty w układzie woda/glicerol oraz woda/glikol polietylenowy. Dla lepszego wychwytu przez komórki przygotowane zostaną koniugaty CIEEPs z nanonośnikami molekularnymi - peptydami penetrującymi oraz z kationem trifenylofosfoniowy (TPP). We współpracy z partnerami zagranicznymi: Prof. Van Dijck z Katolickiego Uniwersytetu w Leuven i Prof. Davidem Williams'em z Cardiff University, potencjał przeciwgrzybiczy najbardziej skutecznych EEPs/CIEEPs oraz mieszanin składników aktywnych (CIEEPs) badany będzie w komórkowych i tkankowych modelach *in vitro* kandydoz jamy ustnej (laboratorium Prof. Williams'a), a także w układach modelowych *in vivo* mysich kandydoz (laboratorium Prof. Van Dijck'a).