

Od zarania dziejów medycynie przyświecał cel ratowania ludzkiego życia i poprawiania funkcjonalności uszkodzonych tkanek lub organów tak, aby w możliwie jak największy sposób zwiększyć komfort życia pacjenta. Możliwości jakie oferuje medycyna współczesna i inżynieria biomateriałowa sprawiają, że wiele poważnych schorzeń i dysfunkcji ciała obecnie przestaje być czynnikami wykluczającymi daną osobę z normalnego i pełnego życia społecznego. Proponowane rozwiązania bardzo często opierają się na zastosowaniu implantów wytwarzanych z materiałów polimerowych, które zapewniają wysoką biokompatybilność. Dzięki temu, że ich struktura opiera się na szkielecie węglowym, substancje polimerowe są znacznie bardziej zbliżone strukturalnie do ludzkich tkanek niż substancje pochodzenia nieorganicznego. Fakt ten pozwala na ich zastosowanie w terapiach celowanych, gdzie występują specyficzne interakcje pomiędzy biomateriałem a komórkami ciała pacjenta. Niestety wszystkie ciała obce wszczepiane do organizmu są pozbawione naturalnej bariery ochronnej ze strony ludzkiego układu immunologicznego i są narażone na zakażenia wywoływane przez szeroką gamę organizmów klasyfikowanych jako szpitalne szczepy patogenne oraz pochodzące z naturalnej mikroflory ludzkiej skóry. Do organizmów tych zaliczamy m. in. bakterie *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. czy drożdże *Candida albicans*. Największe ryzyko zakażeń występuje u osób starszych i obciążonych metabolicznie, natomiast bardzo często zastosowanie tradycyjnej antybiotykoterapii staje się nieefektywne. Prowadzenie nieprawidłowej terapii może wiązać się z koniecznością reoperacji, a nawet śmiercią pacjenta. W celu zwiększenia potencjału aseptycznego stosowanych w medycynie biomateriałów opracowano ich modyfikacje z zastosowaniem nanocząstek srebra czy antybiotyków, jednak nawet takie podejście nie zapewnia całkowitego uniknięcia zakażenia wszczepianego biomateriału. Ponadto, ze względu na powszechne zjawisko antybiotykooporności wśród wielu bakterii, poszukiwane są nowe substancje o wysokim potencjale przeciwdrobnoustrojowym.

Celem projektu jest opracowanie **nowych preparatów dwuskładnikowych złożonych z cząsteczki peptydu antymikrobiologicznego oraz inhibitora enzymów proteolitycznych** (jako składnika odpowiadającego za protekcję przed niepożądanym efektem proteolizy), **które wykazywałyby właściwości przeciwdrobnoustrojowe względem chorobotwórczych mikroorganizmów - *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Candida albicans*.** W ramach zaproponowanych zadań badawczych określony zostanie wpływ tych preparatów na ogólną aktywność metaboliczną drobnoustrojów oraz na powstawanie ewentualnych zmian w strukturach komórkowych i błonowych. Następnie spośród tak scharakteryzowanych preparatów dwuskładnikowych zostanie wybrany jeden, wykazujący najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową, w celu immobilizacji na powierzchni biomateriału polimerowego i sprawdzenia jego użyteczności biologicznej w formie unieruchomionej.

Planowane zadania badawcze obejmują kilka etapów doświadczeń. Pierwszym z nich jest przeprowadzenie analiz FIC, których celem jest określenie synergizmu działania pomiędzy cząsteczkami peptydów antymikrobiologicznych a inhibitorami enzymów proteolitycznych i wyłonienie preparatów dwuskładnikowych o najwyższym potencjale przeciwdrobnoustrojowym. Kolejnym etapem doświadczeń jest sprawdzenie wpływu utworzonych mieszanin na ogólną aktywność metaboliczną drobnoustrojów z uwzględnieniem takich analiz jak testy live/dead, zdolność do wytwarzania biofilmu, sprawdzenie ciągłości błon biologicznych czy wytwarzanie ATP i NADH, które są jednymi z głównych cząsteczek świadczących o sprawnym funkcjonowaniu organizmów żywych. Badania obejmujące kolejne zadanie badawcze opierają się na szerokim zakresie analiz mikroskopowych, które pozwolą na pełne zwizualizowanie potencjalnych zmian zachodzących w strukturach zewnątrzkomórkowych i wewnątrzkomórkowych, ze szczególnym uwzględnieniem błon biologicznych (mikroskopia SEM, TEM, AFM, konfokalna). W ramach ostatniego zadania przeprowadzony zostanie proces unieruchamiania wybranego preparatu dwuskładnikowego na powierzchni protezy polimerowej i ocena jego przydatności biologicznej w zwalczaniu zakażeń mikroorganizmami chorobotwórczymi.

Przeprowadzone w ramach projektu doświadczenia mają na celu zrozumienie i opisanie mechanizmów działania preparatów dwuskładnikowych na wybrane referencyjne szczepy bakteryjne i drożdżowe, które są głównymi czynnikami etiologicznymi zakażeń w obrębie biomateriałów polimerowych wszczepianych do ludzkiego organizmu.