

Fotodynamiczna inaktywacja wielolekoopornego *Staphylococcus aureus* i redukcja jego wirulencji z wykorzystaniem nowych porfiryn koordynowanych jonami galu (III)

mgr Klaudia Szymczak

Gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) jest Gram-dodatnim patogenem z grupy ESKAPE, odpowiedzialnym za około 80% wszystkich skórnych infekcji. Na jego wirulencję składają się czynniki, takie jak produkcja toksyn, tworzenie biofilmu, czy zdolność do internalizacji do komórek gospodarza. Przetrawanie wewnątrzkomórkowe *S. aureus* w komórkach gospodarza jest powiązane z nawracającymi infekcjami, które przyczyniają się do niepowodzeń terapeutycznych. Ze względu na niską penetrację, terapie antybiotykowe nie są wysoko skuteczne wobec wewnątrzkomórkowego *S. aureus*. Obecnie poszukuje się alternatywnych metod przeciwdrobnoustrojowych, które mogą efektywnie obniżyć wewnątrzkomórkowy rezerwuuar bakteryjny. Jedną z opcji terapeutycznych może być przeciwdrobnoustrojowa metoda fotodynamiczna (ang. *antimicrobial photodynamic inactivation*, aPDI), opierająca się na związku chemicznym - fotosensybilizatorze, który ulega wzbudzeniu pod wpływem światła o danej długości fali w środowisku tlenowym. W wyniku działania trzech komponentów, generowane są reaktywne formy tlenu, które przyczyniają się do śmierci bakterii poprzez uszkodzenia biomolekuł komórkowych takich jak: białka, DNA, lipidy. Porfiryny koordynowane jonami galu (III) ($Ga^{3+}MPs$) są związkami o podwójnej funkcjonalności, czyli wykazują właściwości związków fotosensybilizujących w ścieżce zależnej od światła, natomiast w ścieżce niezależnej od światła blokują metabolizm zależny od jonów żelaza, naśladując strukturę naturalnego liganda – hemu. $Ga^{3+}MPs$ są analogami hemu, przez co mogą być rozpoznawane przez specyficzne receptory dla hemu z systemu Isd (ang. *Iron surface determinant*). Po zakumulowaniu we wnętrzu bakterii, jony galu zostają uwolnione z pierścienia porfiryнового, interferując w szlaki metaboliczne zależne od jonów żelaza.

Niniejsza rozprawa doktorska skupia się na zbadaniu efektywności aPDI wobec *S. aureus* w oparciu o zastosowanie nowych związków fotosensybilizujących - porfiryn koordynowanych jonami galu (III). Celem badań jest ocena, czy wzbudzenie $Ga^{3+}MPs$ światłem zielonym może prowadzić do istotnego zmniejszenia aktywności czynników wirulencji, takich jak: toksyny, biofilm, czy wewnątrzkomórkowe przetrwanie *S. aureus*. Efektywność aPDI przebadano na kilku modelach: hodowli zawiesinowej, biofilmie *in vitro* i *ex vivo* (kolonizacja świńskiej skóry) oraz na modelu infekcyjnym ludzkich keratynocytów. W badaniach na modelu infekcyjnym, przetestowano trzy strategie implementacji metody fotodynamicznej celem zbadania: I) możliwości eliminacji bakterii uwolnionych z komórek gospodarza; II) wpływu aPDI na adherencję i internalizację; III) efektywności aPDI w eliminacji wewnątrzkomórkowego *S. aureus*.

Przedstawione wyniki niniejszej rozprawy wskazują, że aPDI ma wysoką efektywność przeciwdrobnoustrojową wobec *S. aureus* w hodowli zawiesinowej, jak i na modelach biofilmu. Wykazano, że aPDI skutecznie inaktywuje biologiczną funkcjonalność istotnych czynników wirulencji, takich jak enterotoksyna gronkowcowa C i toksyna wstrząsu toksycznego TSST-1. Metoda fotodynamiczna może stanowić skuteczną metodę prowadzącą do eliminacji bakterii uwolnionych z gospodarza. Również przedstawiono, że aPDI obniża adherencję *S. aureus* do komórek gospodarza, lecz nie ma znaczącego wpływu na wydajność procesu internalizacji. Wyniki badań wykazały również, że aPDI efektywnie obniża sygnał GFP pochodzący od wewnątrzkomórkowego *S. aureus*. Po raz pierwszy zaprezentowano efektywność nowych porfiryn koordynowanych jonami galu (III) i światła zielonego w zmniejszeniu wewnątrzkomórkowego rezerwuaru *S. aureus*. Znacząco poszerza to możliwości terapeutyczne metody fotodynamicznej w oparciu o $Ga^{3+}MPs$ o przeciwdziałanie nawracającym infekcjom gronkowcowym.