

Streszczenie pracy doktorskiej mgr inż. Marty Targalskiej

Praca doktorska wykonana pod opieką dr hab. inż. Aliny Kunickiej-Styczyńskiej

Właściwości adhezyjne drożdży *Candida* sp. w obecności cytostatyków

Drożdże z rodzaju *Candida* są komensalnymi organizmami eukariotycznymi stanowiącymi część naturalnej mikrobioty przewodu pokarmowego, dróg rodnych i górnych dróg oddechowych ssaków. Tylko niewiele gatunków *Candida* ma znaczenie kliniczne: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* i *Candida dubliniensis*. Spośród nich, gatunek *Candida albicans* jest uznawany za najczęstszy czynnik etiologiczny kandydozy narządowej i uogólnionej u ludzi. Inwazje te mogą dotyczyć wszystkich tkanek, narządów i układów ustroju człowieka w różnych okresach rozwojowych. Drożdże *Candida* sp. zostały uznane za najważniejszy czynnik sprawczy oportunistycznych zakażeń grzybiczych jako głównej przyczyny infekcji u ludzi, zwłaszcza tych z obniżoną odpornością, stanowiąc ogólnoswiatowy problem dla zdrowia publicznego. Chociaż inne grzyby dostarczyły oręża w walce z zakażeniami bakteryjnymi, w postaci antybiotyku penicyliny wytwarzanego przez *Penicillium notatum*, to drożdże z rodzaju *Candida* stają się prawdziwą plagą XXI wieku. W przekonaniu o niebezpieczeństwie, jakie niosą ze sobą zakażenia bakteryjne, stosując szerokowidmową antybiotykoterapię, człowiek niszczy przyjazną florę bakteryjną stwarzając dobre warunki do rozwoju grzybów.

Drożdże, w środowisku naturalnym, rzadko występują w formie planktonowej, w postaci pojedynczych, rozproszonych komórek. Zazwyczaj tworzą zorganizowane osiadłe struktury przybierające wielokomórkową postać biofilmu. Forma biofilmu zwiększa skuteczność ochrony drobnoustrojów przed niekorzystnym działaniem czynników środowiskowych, w tym także antybiotyków, obniża skuteczność mechanizmów obronnych gospodarza, ułatwia zdobywanie substancji odżywczych, stwarza możliwość horyzontalnego przekazywania genów zapewniając ewolucyjną i genetyczną różnorodność oraz umożliwia przekazywanie informacji między komórkami drobnoustrojów.

W poszukiwaniach nowych, skuteczniejszych strategii terapeutycznych ciągle jesteśmy na początku drogi. Ostatnio uwagę przyciągają preparaty pochodzenia naturalnego. Charakteryzując się innym niż stosowane leki przeciwgrzybicze mechanizmem działania mogą stać się cennym wsparciem, a może nawet silnym orężem w walce skierowanej przeciwko opornym gatunkom grzybów.

Celem badań było sprawdzenie własności adhezyjnych środowiskowych izolatów drożdży *Candida* sp. w obecności cytostatyków, w tym również olejków eterycznych: drzewa herbacianego (*Melaleuca alternifolia*), goździkowego (*Syzygium aromaticum* L.) i tymiankowego (*Thymus vulgaris* L.).

Izolaty kliniczne *Candida albicans*, *Candida glabrata* i *Candida lusitanae* pod względem podobieństwa cech morfologicznych i fizjologicznych tworzą trzy heterogenne klastry, w obrębie których lokują się również izolaty *Candida* sp. pochodzące z żywności i środowiska roślinnego: *Candida famata*, *Candida krusei* i *Candida pelliculosa*. Ocena podobieństwa profili biochemicznych wskazuje na wyraźną heterogenność 24 izolatów klinicznych *Candida albicans*, wśród których lokuje się również szczep *Candida tropicalis* fo/BM/01 izolowany z żywności. Równocześnie, odrębna grupa 17 szczepów pochodzących z żywności i środowiska roślinnego zawiera dwa izolaty kliniczne *Candida glabrata* i *Candida lusitanae*. W badaniach nie stwierdzono wyraźnej zależności pomiędzy agregacją i hydrofobowością, a adhezją do polistyrenu i komórek HeLa dla izolatów klinicznych. Natomiast wszystkie szczepy pochodzące z żywności i środowiska roślinnego wykazujące wysoką adhezję do polistyrenu charakteryzowały się niską agregacją i wysoką hydrofobowością. Izolaty pochodzące z żywności i środowiska roślinnego o niskich zdolnościach adhezyjnych do polistyrenu, wykazywały agregację ocenioną jako niską i hydrofobowość klasyfikowaną jako wysoką lub średnią. Wprowadzone do środowiska antybiotyki, kaspofungina i nystatyna, powodowały obniżenie hydrofobowości komórek dla większości zarówno izolatów klinicznych, jak i tych pochodzących z żywności i środowiska roślinnego. W obecności mieszanin olejków eterycznych obserwowano spadek hydrofobowości badanych izolatów. Wszystkie testowane cytostatyki powodowały obniżenie adhezji do powierzchni zarówno biotycznej (komórki HeLa), jak i abiotycznej (polistyren). Olejek drzewa herbacianego, goździkowy i tymiarkowy stosowane w mieszaninach powodowały spadek hydrofobowości komórek większości szczepów drożdży *Candida* sp. oraz obniżenie indeksu adhezji do polistyrenu i komórek HeLa, co wskazuje na ich działanie jako czynnika zakłócającego wczesną kolonizację przez drożdże powierzchni abiotycznej i biotycznej. Pomimo że badane olejki nie powodowały ograniczenia tworzenia biofilmu na powierzchni polistyrenu, to brak adhezji czterech spośród ośmiu badanych izolatów *Candida* sp., w tym trzech izolatów klinicznych, do komórek HeLa w obecności wybranych mieszanin olejków, wskazuje na ich potencjalną funkcję jako czynników ograniczających kolonizację.