

ADAM Z

STRESZCZENIE

W ostatnich dziesięcioleciach można zauważyć znaczący wzrost zachorowań powodowanych przez różnego rodzaju oportunistyczne szczepy grzybicze, w szczególności u pacjentów z upośledzonym układem immunologicznym. Coraz częściej obserwuje się również powstawanie niebezpiecznych i wysoce opornych na leki przeciwgrzybicze biofilmów. Nowatorskim podejściem badawczym, pomocnym w zrozumieniu mechanizmów oporności są narzędzia metabolomiczne, dzięki którym można analizować skład metabolitów mikroorganizmów. W niniejszej rozprawie doktorskiej skupiono się na porównaniu profili metabolicznych lekoopornych oraz lekowrażliwych szczepów z rodzaju *Candida*. Zgodnie z otrzymanymi rezultatami badań wykazano, że zmiany poszczególnych metabolitów u lekoopornych szczepów mogą być związane m.in. z aktywacją szlaków biochemicznych odpowiedzialnych za uzupełnianie energetyczne przy wykorzystaniu źródeł węgla innych niż glukoza. Jednocześnie, lekooporne szczepy *Candida* szybciej przystosowują się do trudnych warunków zewnętrznych, w tym do ograniczonej dostępności tlenu tj. hypoksji. To właśnie w takich warunkach *Candida* najczęściej występuje w żywych organizmach. W niniejszych badaniach pokazano również nowatorskie podejście w taksonomii, oparte na ukierunkowanej analizie metabolomicznej z wykorzystaniem spektroskopii ^1H NMR. Wykorzystując w badaniach trzy różne gatunki patogennych grzybów strzępkowych *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum* i *Geotrichum candidum* należących do trzech różnych klas wykazano specyficzny profil metaboliczny pierwszorzędowych endometabolitów dla każdego z nich. Spośród przeanalizowanych grzybów *A. fumigatus* wydaje się być najbardziej chorobotwórczym grzybem poprzez ukierunkowanie swojego metabolizmu na ochronę ścian komórkowych i błon komórkowych oraz gromadzenie substancji zapasowych w postaci mannitolu. Zrozumienie patogenności grzybów może leżeć u podstaw zjawiska, jakim jest *Quorum sensing*, czyli zdolności porozumiewania się mikro-organizmów w odpowiedzi na różne cząsteczki sygnałowe. Celem niniejszych badań była analiza metabolomiczna podczas tworzenia biofilmu przez patogenny gatunek pleśni *Aspergillus fumigatus*. Pokazano potencjalny wpływ kwasu arachidonowego (AA), małej cząsteczki sygnałowej *Quorum sensing* na wzrost biofilmów. Analiza profilu metabolomicznego pokazała, że w trakcie tworzenia biofilmu podstawowe mechanizmy szlaków biochemicznych zostają wyciszone w czasie. Odwrotny charakter wykazują hodowle w obecności kwasu arachidonowego. Wraz z

upływem czasu hodowli, komórki są nadal aktywne metabolicznie i zdolne do szybkich podziałów komórkowych. Można, zatem sugerować, że obecność AA w miejscach infekcji grzybiczej powodować może wzmożone tworzenie lekoopornych biofilmów.

Wzrost zachorowań na infekcje grzybicze powodowane przez lekooporne gatunki grzybów skłania badaczy do poszukiwania nowych skutecznych leków, mogących przeciwstawić się inwazji patogenów. Jednym z kierunków rozwoju terapii jest analiza produktów naturalnych, wśród których znajduje się bardzo bogaty zbiór różnych substancji o właściwościach przeciw-grzybiczych. W niniejszym badaniach pokazano, że olejek eteryczny pozyskiwany w procesie ekstrakcji ze skórek grejpfruta posiada bardzo dobre, kompleksowe działanie przeciw pleśni *A. fumigatus*, a więc oddziałuje na różne komponenty w komórce jednocześnie. Otrzymane wyniki sugerują, że zastosowanie metabolomiki jest bardzo dobrym narzędziem do wzbogacenia wiedzy na temat mechanizmów działania różnych związków przeciwbakteryjnych oraz przeciw-grzybiczych. Pozwala na dostarczenie podstawowych informacji o zmieniającym się meta-bolizmie, które stanowią istotny punkt wyjścia do dalszej analizy z dziedzin nauk omicznych tj. genomiki, transkryptomiki oraz proteomiki.