

Biofilmy są to struktury złożone z drobnoustrojów takich jak bakterie czy grzyby oraz syntezowanej przez nie macierzy pozakomórkowej. Macierz ta zbudowana jest z polimeru złożonego z cząsteczek cukrów. Odpowiada ona za zlepianie drobnoustrojów ze sobą oraz z podłożem, którym mogą być tkanki organizmów żywych w przebiegu chorób zakaźnych. Wytworzenie biofilmu w organizmie żywym wiąże się z uzyskaniem przez drobnoustroje ochrony przed działaniem komórek układu odpornościowego oraz osłabieniem działania substancji przeciwdrobnoustrojowych takich jak antybiotyki czy środki dezynfekujące. Wynika to po pierwsze z obecności macierzy pozakomórkowej, która tworzy barierę nieprzepuszczalną dla komórek i wielu związków chemicznych. Co więcej biofilmy, wykazują pewne cechy organizmu wielokomórkowego gdyż pod wpływem działania czynników zewnętrznych potrafią zmieniać swoją strukturę, skład gatunkowy czy dzielić się na wysoko wyspecjalizowane jednostki, z których każda odpowiada za prowadzenie innych procesów metabolicznych.

Jama ustna zasiedlana jest przez ponad 700 gatunków drobnoustrojów. Większość z nich zlokalizowana jest w płytce nazębnej będącej szczególnym przykładem biofilmu. W sytuacji stosowania diety bogatej w cukry proste oraz sacharozę, w płytce nazębnej następują znaczne zmiany składu gatunkowego, przy czym obserwuje się znaczny przyrost drobnoustrojów kwasotwórczych, z których największą rolę w rozwoju próchnicy odgrywa *Streptococcus mutans*. Bakteria ta odżywia się cukrami dostarczonymi w diecie produkując kwasy organiczne, które z kolei trawią tkanki twarde zęba prowadząc do powstawania ubytków próchnicowych. Ponadto drobnoustrój ten wykorzystując sacharozę obecną w dużych ilościach w słodkich napojach oraz słodyczach syntezuje duże ilości macierzy biofilmu zapewniając sobie doskonałą barierę chroniącą przed działaniem składników śliny o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych.

Jednym z tych składników jest laktoperoksydaza – enzym wydzielany do śliny posiadający zdolność do utleniania jonów tiocyjanianowych (SCN^-) (również obecnych w ślinie) do jonów hypotiocyanianowych (OSCN^-). Te ostatnie posiadają zdolność uszkodzenia białek drobnoustrojów zaangażowanych w metabolizm cukrów, prowadząc ostatecznie do ich śmierci. Niestety produkty opisanego fizjologicznego układu laktoperoksydazowego okazały się być mało skuteczne w zwalczaniu biofilmów bakteryjnych i grzybiczych. Niemniej jednak istnieje szereg substratów нефизjologicznych, których produkty utleniania przez wspomniany enzym charakteryzują się silniejszymi właściwościami utleniającymi od produktów fizjologicznych lecz ich działanie na biofilm nie zostało do tej pory przebadane.

Celem tego projektu jest przebadanie wpływu układu laktoperoksydazowego zmodyfikowanego przez zastosowanie szeregu нефизjologicznych substratów na biofilmy bakteryjne oraz bakteryjno-grzybicze odpowiedzialne za rozwój próchnicy zębów.

W prowadzonych badaniach zostaną zastosowane zaawansowane techniki mikrobiologiczne, genetyczne oraz chemiczne. Scharakteryzowane zostaną parametry reakcji laktoperoksydazy z każdym z analizowanych substratów. Przebadany zostanie wpływ poszczególnych układów na tworzenie biofilmu, jego masę, żywotność drobnoustrojów, ilość wyprodukowanej macierzy, trójwymiarową strukturę. Ponadto oceniony zostanie wpływ tych układów na ekspresję genów *Streptococcus mutans* związanych z jego patogennością zależną od dostępności sacharozy oraz oceniony zostanie wpływ na profil metaboliczny. Ostatni etap badań będzie obejmował badanie toksyczności badanych układów względem komórek dziąseł człowieka.

Rezultatem przeprowadzonych badań będzie określenie mechanizmu działania oraz potencjału przeciwbiofilmowego przebadanych modyfikacji układu laktoperoksydazowego względem biofilmów związanych z rozwojem próchnicy zębów. Wyniki przeprowadzonych badań poszerzą wiedzę w obszarze farmakoterapii oraz prewencji chorób zakaźnych, mikrobiologii farmaceutycznej a w przyszłości mogą stanowić podstawę do dalszych badań nad zastosowaniem zmodyfikowanego układu laktoperoksydazowego w leczeniu i zapobieganiu rozwojowi chorób związanych z biofilmem.