

Streszczenie w języku polskim

Infekcyjne zapalenie wsierdzia (IZW), należy do groźnych, często śmiertelnych chorób, w którym w wyniku tworzenia złogów płytek krwi i biofilmu drobnoustrojów dochodzi do rozwoju zmian patologicznych zlokalizowanych głównie na zastawkach i/lub wewnętrznej ścianie mięśnia sercowego. Zakażenie może obejmować również inne struktury, takie jak większe naczynia krwionośne czy biomateriały obecne w jamach serca. IZW dotyczy nie tylko osób starszych, pacjentów po przeszczepie zastawek, z wstawionymi rozrusznikami mięśnia sercowego czy z chorobą wieńcowo-naczyniową, ale w określonych okolicznościach również ludzi młodych, cieszących się dotąd dobrym zdrowiem, więc skala problemu jest bardzo duża. Choroba ta dotyka rocznie 3-10 osób/100 tys. mieszkańców, a śmiertelność sięga nawet 35-62% i jest szczególnie wysoka w przypadku pacjentów poddawanych hemodializie.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była próba charakteryzacji bogatego w polifenole ekstraktu uzyskanego z serdecznika pospolitego (*Leonurus cardiaca* L.), w kontekście jego aktywności przeciwbakteryjnej i immunomodulującej. Przyjęty układ badawczy odzwierciedlał relacje patogen-gospodarz zachodzące w środowisku hipotetycznej zmiany infekcyjno-zapalnej zlokalizowanej w tkankach mięśnia sercowego w przebiegu infekcyjnego zapalenia wsierdzia. Prozdrowotne właściwości naturalnych produktów roślinnych znane są człowiekowi od tysięcy lat i wykorzystywane w tzw. etnomedycynie. Pogłębiający się impas antybiotykoterapii, zwłaszcza w leczeniu trudnych zakażeń, czyli zakażeń przewlekłych, przebiegających najczęściej z udziałem biofilmów drobnoustrojów, na które nakładają się dysfunkcje tkankowe gospodarza, wymusił konieczność poszukiwania nowych rozwiązań terapeutycznych. Jednym z nich jest możliwość wykorzystania naturalnych ekstraktów roślinnych w oparciu o ich szeroką aktywność biologiczną. Wymaga to szczegółowych badań, w tym nie tylko oceny bezpośredniego działania biostatycznego/biobójczego tego typu preparatów, ale także określenia ich wpływu na komórki eukariotyczne gospodarza. W przedstawionym cyklu publikacji podjęto próbę takiej kompleksowej oceny aktywności biologicznej i wyjaśnienia mechanizmów działania ekstraktu z ziela serdecznika pospolitego (LCE).

W ramach prezentowanego zestawu badań dokonano oceny wpływu LCE zarówno na jeden z głównych czynników etiologicznych IZW – gronkowce złociste (*Staphylococcus aureus*), jak i komórki eukariotyczne zaangażowane w patogenezę tej choroby. Dowiedziono znaczącej aktywności przeciwadhezyjnej i przeciw-biofilmowej badanego

preparatu w stosunku do gronkowców, a także wykazano jego wpływ hamujący na inne czynniki zjadliwości tych drobnoustrojów, takie jak zdolność agregacji w ludzkim osoczu, produkcja koagulazy i α -toksyny, ekspresja białka A czy przeżywanie bakterii we krwi. Tym samym zasugerowano, iż w warunkach *in vivo* LCE może wspomagać eliminację *S. aureus* przez komórki immunokompetentne, a także utrudniać przyleganie tych drobnoustrojów do białek zewnątrzkomórkowej macierzy pokrywających tkanki serca i finalnie zapobiegać rozwojowi IZW. W badaniach dotyczących wpływu ekstraktu z serdecznika na komórki eukariotyczne potwierdzono jego przeciwpłytkową aktywność w zakresie przylegania, aktywacji oraz agregacji płytek krwi, co może ograniczać *in vivo* narastanie wegetacji w tkankach serca. Warto podkreślić jest także fakt wykazania korzystnych właściwości ekstraktu z *L. cardiaca* w stosunku do komórek śródbłonna naczyniowego (w zakresie ich aktywności wydzielniczej), a także układu krzepnięcia krwi. Ponadto stwierdzono, iż badany ekstrakt nie wykazuje aktywności cytotoksycznej oraz nie indukuje programowanej śmierci komórek linii HUVEC. Na podstawie wyników tych badań można uznać, iż użycie ekstraktu z serdecznika pospolitego nawet w wysokich stężeniach (do 4,5 mg/ml) jest bezpieczne dla komórek eukariotycznych i możliwe do zastosowania *in vivo*.

Biorąc pod uwagę rezultaty przeprowadzonych badań *in vitro*, w tym udowodniony efekt przeciwdrobnoustrojowy, przeciw-biofilmowy, przeciwpłytkowy i regulacyjny ekstraktu z *L. cardiaca*, można założyć jego aktywność ochronną i immunomodulacyjną w stosunku do tkanek mięśnia sercowego *in vivo*, a tym samym sugerować stosowanie LCE w celu minimalizowania ryzyka rozwoju infekcyjnego zapalenia wsierdza. Jednak wiedza dotycząca aktywności biologicznej LCE jest wciąż niekompletna i wymaga dalszych badań, w tym badań z użyciem modeli zwierzęcych oraz badań klinicznych.



Streszczenie w języku angielskim

Infective endocarditis (IE) is serious and the most often fatal disease in which the formation of platelet deposits and microbial biofilm results in the development of pathological lesions located mainly on the valves and/or the inner wall of the myocardium. The infection may also include other structures such as larger blood vessels or biomaterials present in the heart cavities. The IE affects not only older people, valve transplant recipients, the patients with inserted pacemakers or coronary artery disease, but under certain circumstances also young people with good health, so the scale of the problem is very high. The disease affects 3-10 persons per 100,000 residents per year, with mortality rate reaching 35-62%, which is particularly high in patients undergoing hemodialysis.

The aim of the study was to characterize rich in polyphenols plant extract obtained from motherwort herb (*Leonurus cardiaca* L.), in the context of its antimicrobial and immunomodulatory activity. The prepared *in vitro* research system reflected host-pathogen interactions in hypothetical infectious-inflammatory lesion in cardiac tissue during infective endocarditis. The health benefits of natural plant products have been known to people for thousands of years and used in so called ethnomedicine. The impending impasse of antibiotic therapy, especially in the treatment of difficult infections, which are chronic infections, most often involving microbial biofilms, additionally complicated by tissue dysfunctions, has forced the scientists to search for new therapeutic solutions. One of them is the possibility of using natural plant extracts based on their wide biological activity. It requires detailed research, including not only the assessment of the direct biostatic/biocidal activity of such new agents, but also their effect on host eukaryotic cells. In the presented publication cycle, an attempt was made to comprehensively evaluate the biological activity of plant extract from motherwort herb (LCE) and explain its action mechanism.

In the present study the impact of LCE on both: one of the most important etiological agents of IE – coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus*) as well as eukaryotic cells involved in pathogenesis of this disease were assessed. The significant antiadhesive and anti-biofilm activity of the tested extract in relation to staphylococci and its inhibitory effect on the other virulence factors of these bacteria, such as aggregation capacity in human plasma, the production of coagulase and α -toxin, staphylococcal protein A expression or bacterial survival in the blood have been proved. Thus, it has been suggested that *in vivo* LCE may support the eradication of *S. aureus* by immunocompetent cells, inhibit the adhesion of these microorganisms to the extracellular matrix proteins covering heart

tissues and finally prevent the development of IE. In the study on the impact of LCE on eukaryotic cells the anti-platelet activity of motherwort extract in terms of platelet adhesion, activation and aggregation has been confirmed, which may limit the development of vegetation in the heart tissue *in vivo*. It is worth emphasizing that the beneficial properties of *L. cardiaca* extract for vascular endothelial cells (concerning their secretory activity) as well as blood coagulation system have also been demonstrated. Moreover, it was shown that the extract was no cytotoxic and did not induce programmed cell death of HUVECs. Based on these data it can be concluded that the use of motherwort extract even in high concentrations (up to 4.5 mg/ml) is safe for eukaryotic cells and thus possible to be used *in vivo*.

Considering the results of the studies conducted *in vitro*, including proven antimicrobial, anti-biofilm, antiplatelet and regulatory effects of *L. cardiaca* extract, its protective and immunomodulatory activity in relation to the myocardial tissue *in vivo* can be assumed. Thus, the use of LCE to minimize the risk of infective endocarditis development can be suggested. However, the knowledge about biological activity of LCE is still incomplete and requires further research including animal models and clinical trials.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, sweeping initial letter followed by a smaller, more intricate flourish.