

Małgorzata Gizińska<sup>1</sup>, Weronika Pytlak<sup>2</sup>, Magdalena Lis<sup>2</sup>,  
Beata Gad<sup>3</sup>, Monika Staniszewska<sup>1</sup>

Received: 10.08.2018

Accepted: 06.11.2018

Published: 31.05.2019

## Nowe trendy w poszukiwaniu alternatywnych terapii przeciwgrzybiczych

### New trends in the search for alternative antifungal therapies

<sup>1</sup> Zakład Badania Surowic i Szczepionek, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Wydział Chemii, Politechnika Warszawska, Warszawa, Polska

<sup>3</sup> Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, Polska

Adres do korespondencji: Dr hab. n. med. Monika Staniszewska, Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków, Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej, ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa, tel.: +48 22 234 55 73, e-mail: mstaniszewska@ch.pw.edu.pl

#### Streszczenie

Niniejsza praca podejmuje tematykę zakażeń grzybiczych w kontekście narastającej oporności na dostępne leki przeciwgrzybicze oraz opracowywania nowych antymikotyków. Około 90% wszystkich zakażeń grzybiczych jest powodowanych przez grzyby należące do rodzajów: *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis* oraz *Cryptococcus*. Zakażenia o etiologii *Candida albicans* stanowią globalny problem kliniczny, a kandydozy układowe uznawane są za jedne z cięższych rodzajów grzybic, w których śmiertelność pacjentów wynosi około 40% – pomimo podjęcia leczenia. Jak dotąd dostępnych jest pięć klas antymikotyków, z których jedynie trzy (azole, echinokandyny oraz polieni) stosuje się w zwalczaniu zakażeń układowych. Mała różnorodność dostępnych leków, a także ich nadużywanie w terapii i profilaktyce przyczyniły się do narastania oporności wśród patogenów grzybiczych. Zidentyfikowano szereg mechanizmów oporności na antymikotyki. Obejmują one w szczególności: mutacje w genach kodujących białka docelowe, zwiększenie lub zmniejszenie ilości białka docelowego, działanie pomp białkowych, tworzenie biofilmu czy aktywację odpowiedzi stresowej. Wzrastająca częstotliwość występowania grzybic oraz trudność ich leczenia wymuszają poszukiwanie alternatywnych terapeutyków, o nowych mechanizmach działania. Ze względu na eukariotyczny charakter komórek grzybiczych najnowsze trendy w literaturze przedmiotu sugerują, aby mechanizm działania nowych leków ukierunkować specyficznie na czynniki zjadliwości lub na odpowiedź stresową patogenu.

**Słowa kluczowe:** *Candida albicans*, leki przeciwgrzybicze, wirulencja

#### Abstract

The paper addresses the issue of fungal infections in the context of growing resistance to currently available antifungal agents and the development of new antimycotics. Fungal pathogens belonging to the genera *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis* and *Cryptococcus* account for about 90% of all fungal infections. *Candida albicans* infections are a global clinical problem, and systemic candidiasis is considered one of the most severe fungal infections, with mortality rates of about 40% despite treatment. Currently, there are five classes of antimycotics available, of which only three (azoles, echinocandins and polyenes) are used for systemic infections. The limited variety of available therapies as well as their overuse in both therapy and prevention have contributed to the growing resistance among fungal pathogens. Many mechanisms of resistance to antimycotics have been identified. These include in particular: mutations in genes encoding target proteins, increase or decrease in target protein, protein pump activity, biofilm formation or activation of stress response. The growing incidence of fungal infections and the difficulty of their treatment have forced the search for alternative therapeutic agents with new mechanisms of action. Due to the eukaryotic nature of fungal cells, recent trends in literature imply that novel agents should specifically target virulence factors or stress response of the pathogen.

**Keywords:** *Candida albicans*, antifungal agents, virulence

## WSTĘP

Postępy w takich dziedzinach jak transplantologia czy onkologia sprawiły, że średnia długość życia pacjentów wzrasta<sup>(1)</sup>. Proporcjonalnie do postępu medycznego rośnie też ryzyko oportunistycznych infekcji grzybiczych, ponieważ pacjenci z zaburzeniami odporności stanowią grupę niezwykle podatną na te zakażenia<sup>(2,3)</sup>. Do czynników sprzyjających rozwojowi infekcji grzybiczej należą m.in.: stosowanie leków immunosupresyjnych, infekcja HIV (*human immunodeficiency virus*), choroby nowotworowe, wcześniactwo, zaawansowany wiek, ostre białaczki, stosowanie antybiotyków o szerokim spektrum działania, cukrzyca, rozległe poparzenia, długoterminowe cewnikowanie, terapia kortykosteroidami, przeszczepy szpiku lub organów<sup>(1-4)</sup>. Częstość występowania infekcji uzależniona jest od czynników społeczno-ekonomicznych oraz obszaru geograficznego. Najczęściej diagnozowaną przyczyną zakażeń grzybiczych są patogeny należące do rodzaju: *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis* oraz *Cryptococcus*<sup>(5,6)</sup>. Obszarami szczególnie narażonymi na infekcję są rany w obrębie skóry (kandydozy powierzchniowe) oraz błony śluzowe organów wewnętrznych (kandydozy układowe). Ponadto rozwój biofilmu grzybiczego na urządzeniach medycznych – m.in. protezach chirurgicznych, cewnikach żylnych lub moczowych – sprzyja kolonizacji oraz inwazji tkanek<sup>(7)</sup>. Inwazyjne infekcje grzybicze stanowią problem na skalę światową ze względu na wysoką śmiertelność w przypadku zakażeń. Wiąże się to z ograniczonymi możliwościami terapii w tym zakresie oraz długotrwałą diagnostyką<sup>(2,4,5)</sup>. Pojawia się więc potrzeba lepszego poznania mechanizmów patogenezы oraz oporności grzybów, co pozwoli na wytypowanie nowych wewnątrzkomórkowych celów dla nowych antymikotyków. Niniejsza praca ma na celu naświetlenie problemu, jakim są inwazyjne zakażenia grzybicze, krótkie scharakteryzowanie dostępnych leków przeciwgrzybiczych oraz omówienie nowych trendów w poszukiwaniu alternatywnych terapii.

## CANDIDA ALBICANS – JAKO ORGANIZM MODELOWY

Wiele zasadniczych procesów komórkowych przebiega w komórkach grzybów podobnie jak u organizmów wyższych, co przełożyło się na sukces *Saccharomyces cerevisiae*, a później *Candida albicans* (*C. albicans*) jako eukariotycznych organizmów modelowych<sup>(8,9)</sup>. *C. albicans* jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych oraz najlepiej poznanych oportunistycznych patogenów grzybiczych. Zakończenie i dostępność sekwencji genomu *C. albicans* umożliwiły zainicjowanie szerokich badań wspomagających zrozumienie patogenezы grzybów. Ponadto przeprowadzone w ciągu ostatnich 20 lat prace badawcze dostarczyły nowych danych dotyczących lekooporności, tworzenia biofilmu, struktury i dynamiki genomu oraz ekspresji genów (w tym genów kodujących czynniki wirulencji) w zależności od takich

warunków, jak temperatura, pH, forma wzrostu, stadium infekcji czy traktowanie antymikotykami<sup>(8)</sup>.

W organizmie ssaków *C. albicans* wchodzi w skład naturalnej mikroflory skóry, przewodu pokarmowego oraz błon śluzowych narządów płciowych i górnych dróg oddechowych<sup>(10)</sup>. Grzyby z rodzaju *Candida* występują u około 50–70% populacji ludzkiej, nie wywołując objawów chorobowych<sup>(1)</sup>. Natomiast u osób z zaburzeniami odporności grzyby te odpowiadają za infekcje o charakterze powierzchniowym lub układowym<sup>(1,10)</sup>. Przeważnie są to zakażenia typu endogennego. Pierwszy typ infekcji dotyczy błon śluzowych, skóry i paznokci. Natomiast w przypadku zakażeń systemowych pierwszym etapem jest często zakażenie krwi komórkami grzyba (tzw. kandydemia), które następnie rozprzestrzeniają się do innych narządów gospodarza (kandydoza układowa). Może to prowadzić do niewydolności jednego lub wielu organów<sup>(2,3)</sup>. Dane literaturowe<sup>(1,5)</sup> wskazują, że *C. albicans* pozostaje główną przyczyną zakażeń szpitalnych. Mniejszy udział przypisywany jest gatunkom: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. dubliniensis*<sup>(6)</sup>.

Głównym czynnikiem predysponującym do inwazyjnych zakażeń o podłożu *C. albicans* jest obniżona kondycja zdrowotna gospodarza, której podłoże zostało szerzej omówione we wstępie, jako czynniki predysponujące. Dodatkowymi elementami, które przyczyniają się do rozwoju infekcji, są czynniki zjadliwości (wirulencji) grzybów, odpowiadające za jego patogenność<sup>(10)</sup>. Do najszerszej poznanych czynników wirulencji *C. albicans* należą zdolność do adhezji i penetracji tkanek gospodarza, zmienność fenotypowa, pleomorfizm, aktywność enzymatyczna, złożona budowa ściany komórkowej oraz wzrost w postaci biofilmu, zwanego też błoną biologiczną<sup>(7,10)</sup>. Jednocześnie zdolność do wytwarzania biofilmu odgrywa kluczową rolę w patogenezы, ochronie przed układem immunologicznym gospodarza, a także w oporności komórek biofilmu na dostępne leki przeciwgrzybicze<sup>(7)</sup>.

## ANTYMIKOTYKI DOSTĘPNE W LECZNICTWIE

O prawidłowym przebiegu terapii przeciwgrzybiczej decyduje właściwe rozpoznanie patogenu, jego wrażliwość na zastosowany lek oraz czas półtrwania leku w organizmie pacjenta. Ze względu na mechanizm działania obecnie stosowane antymikotyki dzieli się tradycyjnie na pięć grup: 1) azole hamujące syntezę ergosterolu poprzez blokowanie aktywności demetylasy lanosterolu; 2) polieny, które zaburzają funkcjonowanie błony komórkowej; 3) echinokandyny, które powodują zaburzenie biosyntezy ściany komórkowej przez inhibicję syntazy  $\beta$ -1,3-glukanu; 4) fluorowane pochodne pirymidyny (5-FC) hamujące syntezę DNA i/lub RNA; 5) alliloaminy (terbinafina), które hamują biosyntezę ergosterolu poprzez inhibicję epoksydazy skwalenowej i/lub akumulacji toksycznych produktów pośrednich syntezy steroli<sup>(6,11,12)</sup>. Azole są stosowane jako leki pierwszego wyboru przy profilaktyce pacjentów z podejrzeniem zakażenia grzybiczego<sup>(4)</sup>. Ich mechanizm działania polega na hamowaniu 14 $\alpha$ -demetylasy lanosterolu (kodowanej przez gen *ERG11*),

co zaburza syntezę ergosterolu i prowadzi do wzrostu stężenia 24 $\alpha$ -metylosteroli w komórce grzyba<sup>(11)</sup>. Gromadzenie się tych toksycznych steroli w komórkach powoduje zahamowanie wzrostu grzyba (działanie grzybobostacyjne). W warunkach klinicznych najczęściej stosowanym lekiem jest flukonazol – ze względu na jego dużą dostępność i tolerancję przez pacjentów<sup>(4,12)</sup>. Stosowanie azoli w terapii grzybic ma pewne ograniczenia, ponieważ wykazują one nefrotoksyczność oraz interakcję z innymi lekami, m.in. ze statyną czy kortykosteroidami<sup>(13)</sup>. Ponadto grzybobostacyjne działanie azoli przyczyniło się do pojawienia się selekcji w kierunku szczepów opornych.

Polieny – takie jak amfoterycyna B (AmB) – mają zdolność wiązania ergosterolu, co zaburza funkcjonowanie błony komórkowej. Ergosterol jest głównym steroidem błony komórkowej grzyba i jest niezbędny do utrzymania jej integralności. Polieny łączą się z ergosterolem w dwuwarstwie lipidowej<sup>(12,13)</sup>, w wyniku czego dochodzi do powstawania porów w błonie komórkowej, zakłócenia jej integralności oraz wpływu składników komórkowych. Zjawiska te prowadzą do śmierci komórki<sup>(11)</sup>. Toksyczność wszystkich polienów wynika z ich powinowactwa do cholesterolu, który jest ludzkim odpowiednikiem występującego u grzybów ergosterolu<sup>(14)</sup>. Dlatego terapia AmB wiąże się z szeregiem niepożądanych skutków ubocznych, do których należy m.in. neurotoksyczność. Jednak większości tych negatywnych skutków można uniknąć, stosując preparaty liposomowe<sup>(4,12)</sup>. Od niedawna w terapii przeciwgrzybiczej używa się także związków z grupy echinokandyn (kaspofungina, anidulafungina, mikafungina), których miejscem działania jest ściana komórkowa grzybów. Działanie echinokandyn opiera się na niekompetycyjnej inhibicji syntazy  $\beta$ -1,3-glukanu<sup>(11,13,14)</sup>. W konsekwencji leki te doprowadzają do zaburzonego funkcjonowania fibryli, co skutkuje utratą integralności ściany komórkowej grzybów<sup>(13)</sup>. Brak odpowiednika  $\beta$ -1,3-glukanów w organizmach wyższych warunkuje niską toksyczność echinokandyn<sup>(15)</sup>.

Analogi pirymidynowe, takie jak 5-fluorocytozyna (5-FC) i 5-fluorouracil (5-FU), są syntetycznymi pochodnymi jednej z czterech zasad azotowych obecnych w nukleotydzie DNA – cytozyny<sup>(14)</sup>. Mechanizm działania tej grupy związków polega na hamowaniu syntezy RNA/DNA grzybów. Komórki grzybów metabolizują 5-FC do fluorowanych pirymidyn, które destabilizują kwasy nukleinowe.

Konsekwencją tego jest zahamowanie wzrostu komórek grzyba<sup>(12)</sup>. Pomimo licznych zalet farmakologicznych (dobra rozpuszczalność i niska toksyczność) stosowanie 5-FC w praktyce klinicznej nieustannie maleje. Dzieje się tak z powodu częstego występowania pierwotnej lub nabytej oporności grzybów na ten antymikotytek. Dlatego 5-FC stosuje się w połączeniu z innym lekiem przeciwgrzybiczym, takim jak AmB czy flukonazol – a nie w monoterapii<sup>(14)</sup>.

Alliloaminy mają mniejsze znaczenie w leczeniu zakażeń o etiologii grzybiczej, ponieważ związki należące do tej grupy (np. terbinafina) są stosowane jedynie w leczeniu powierzchniowych infekcji skórnych<sup>(12)</sup>. Hamują one biosyntezę ergosterolu niezależnie od enzymów cytochromu P450 poprzez wiązanie epoksydazy skwalenowej. Wewnątrzkomórkowe gromadzenie dużych ilości skwalenu prowadzi do zaburzeń w organizacji komórki, zwiększonej przepuszczalności błon oraz śmierci komórki<sup>(11)</sup>.

Powszechne stosowanie leków przeciwgrzybiczych przyczyniło się do wykształcenia efektywnych mechanizmów obronnych i pojawienia się szczepów opornych. Główne mechanizmy oporności na antymikotyki dostępne w lecznictwie zostały przedstawione w tab. 1. Oprócz rosnącej oporności wśród patogenów grzybiczych na stosowane leki problemem pozostaje wczesne rozpoznawanie czynnika etiologicznego danej infekcji. Konwencjonalna diagnostyka w dalszym ciągu opiera się na hodowlach krwi, które są dodatnie tylko w 50–70% przypadków kandydemii<sup>(4,16)</sup>. Ponadto identyfikacja patogenu do poziomu gatunku oraz uzyskanie danych dotyczących lekowrażliwości trwają zwykle od kilku do kilkunastu dni, co pozostaje istotną przeszkodą dla wczesnego wykrywania infekcji i podjęcia leczenia. Z kolei badanie mikroskopowe jest szybkie i może być pomocne, ale jego wynik ujemny nie wyklucza infekcji<sup>(4,16)</sup>. W związku z tym kolejnym zadaniem walki z inwazyjnymi zakażeniami grzybiczymi jest rozwój diagnostyki molekularnej, która przyspieszy podjęcie odpowiedniej terapii przeciwgrzybiczej na podstawie zależnych od gatunku wzorców wrażliwości.

## W POSZUKIWANIU NOWYCH LEKÓW

Wzrost oporności *C. albicans* na dostępne leki stwarza potrzebę prowadzenia badań nad alternatywnymi terapeutykami. Nowe związki powinny wykazywać wysoką aktywność, szerokie spektrum działania, stabilność, niewrażliwość na stężenie

Grupa leków przeciwgrzybiczych	Mechanizm oporności <i>C. albicans</i>	Piśmiennictwo
Azole	System pomp wypływu – zmniejszanie pobierania azoli ze środowiska i/lub usuwanie azoli z wnętrza komórki Nadekspresja/mutacja punktowa genu <i>ERG11</i> kodującego docelowy enzym (demetylaza lanosterolu) Mutacje w genie <i>ERG3</i> umożliwiające tolerancję zmetylowanych steroli	(11–13)
Polieny	Zmiana lub zmniejszenie ilości ergosterolu w błonie komórkowej	(12,14)
Echinokandyny	Mutacje genu <i>FKS</i> kodującego podjednostkę syntazy $\beta$ -1,3-glukanu	(11,13)
Fluorowe pochodne pirymidyny	Zmniejszenie ilości deaminazy cytozyny lub fosforybozylotransferazy uracylu	(11,14)
Alliloaminy	Mutacja punktowa genu <i>ERG1</i> kodującego epoksydazę skwalenową	(13,14)

14 Tab. 1. Molekularne mechanizmy oporności *C. albicans* na antymikotyki

soli, takich jak chlorek sodu, oraz niską toksyczność<sup>(17,18)</sup>. W tym kontekście w centrum zainteresowania znalazły się naturalne peptydy wykazujące właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Związki te bezpośrednio zwalczają patogeny lub stymulują reakcje prozapalne poprzez aktywację receptorów Toll-podobnych i cytokin prozapalnych<sup>(17,18)</sup>. Niestety, mimo ich obiecującego potencjału naturalne peptydy przeciwdrobnoustrojowe wykazują liczne niekorzystne właściwości, takie jak niestabilność, wrażliwość na stężenie soli w organizmie czy aktywność hemolityczna<sup>(17)</sup>. Powyższe cechy – wraz z wysokimi kosztami produkcji – kierują poszukiwania nowych antymikotyków w kierunku syntez chemicznych.

Ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne tetrazole stanowią obiecującą grupę wyjściową przy projektowaniu leków. Dzięki swoim cechom strukturalnym łatwo oddziałują z różnymi enzymami i/lub z receptorami poprzez słabe interakcje, takie jak wiązania wodorowe. Ponadto pierścien tetrazolowy można łatwo modyfikować poprzez dodanie różnych grup funkcyjnych, co pozwala otrzymać ogromną grupę związków o szerokim spektrum aktywności biologicznej<sup>(19)</sup>. Pochodne tetrazolowe znajdują zastosowanie w takich dziedzinach, jak rolnictwo, medycyna czy biochemia<sup>(20)</sup>. Związki te wykazują m.in. aktywność antyhipertensyjną, przeciwnowotworową, przeciwgrzybiczą, przeciwbakteryjną, przeciwzapalną oraz przeciwbólową<sup>(19)</sup>. Tetrazole zakłócają integralność błony komórkowej poprzez hamowanie biosyntezy ergosterolu w komórkach grzybiczych. W większości są to związki silnie grzybobójcze, a tylko nieliczne wykazują właściwości grzybobójcze<sup>(21)</sup>. Kluczowy problem przy opracowywaniu nowych antymikotyków stanowi eukariotyczny charakter komórek grzybiczych. Wysokie podobieństwo podstawowych biochemicznych i biologicznych procesów zachodzących w komórkach eukariotycznych powoduje, że nowe związki przeciwgrzybicze wywołują działania niepożądane w komórkach ssaków<sup>(9)</sup>. Dlatego najnowsze trendy w zakresie badań nad alternatywnymi lekami przeciwgrzybiczymi sugerują ukierunkowanie ich działania na czynniki wirulencji lub odpowiedź stresową grzybów<sup>(10,22)</sup>.

W tym kontekście pochodne sulfonowe stanowią obiecującą grupę związków biologicznie czynnych, wykazujących m.in. właściwości przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, herbicydowe, przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze<sup>(23–25)</sup>. Dodatkowo niezwykle istotna z klinicznego punktu widzenia jest ich aktywność grzybobójcza, która może stanowić podstawę do syntezy nowych antymikotyków bazujących na grupie sulfonowej<sup>(24,25)</sup>. Prowadzone w ostatnich latach badania wykazały wysoką aktywność przeciwgrzybiczą pochodnych sulfonowych wobec szczepów referencyjnych, jak również izolatów klinicznych *C. albicans*<sup>(23,24)</sup>. Działanie tych związków polegało m.in. na redystrybucji chityny, co prowadzi do utraty integralności ściany i błony komórkowej drożdży. Sulfony ingerują również w morfogenezę oraz zdolność adhezji komórek *C. albicans*, co z kolei ogranicza rozwój biofilmu<sup>(24)</sup>. Ponadto hamują aktywność czynników transkrypcyjnych *EFG1* oraz *CPH1*, które biorą

udział w tworzeniu strzępek prawdziwych, umożliwiających inwazję tkanek gospodarza<sup>(23)</sup>. Ze względu na nieznaczną toksyczność *in vitro* oraz *in vivo* dotychczas przebadane pochodne sulfonowe stanowią potencjalne struktury wyjściowe do optymalizacji procesu produkcji leków znajdujących zastosowanie w terapii przeciwgrzybiczej<sup>(23–25)</sup>.

## KALCYNEURyna – NOWY CEL DLA ANTYMIKOTYKÓW

W ostatnich latach znacznie wzrosło zainteresowanie mechanizmami transdukcji z udziałem kluczowego drugorzędowego przekaźnika wapnia – ze względu na udział odpowiedzi stresowej w adaptacji i przeżywalności patogenów grzybiczych poddanych ekspozycji na stres środowiskowy<sup>(22)</sup>. Za wewnątrzkomórkową homeostazę wapnia w komórkach *C. albicans* odpowiada kalcyneuryna – aktywowane kalmoduliną białko enzymatyczne o aktywności fosfatazy serynowo-treoninowej<sup>(22,26)</sup>. Kalcyneuryna jest heterodimerem składającym się z podjednostki katalitycznej A (kodowanej przez gen *CNA1*) i podjednostki regulatorowej B (kodowanej przez gen *CNBI*). Wzrost stężenia jonów wapnia w cytozolu powoduje, że kalmodulina wiąże się z podjednostką A kalcyneuryny i blokuje działanie autoinhibitorowej domeny C-końcowej, w wyniku czego powstaje aktywny kompleks kalcyneuryny<sup>(27)</sup>. Ponadto u wielu gatunków grzybów patogennych kalcyneuryna jest niezbędna do zachowania wirulencji i oporności na antymikotyki<sup>(22)</sup>. Udowodniono, że regulacja stężenia jonów wapnia przekłada się m.in. na wzrost w postaci strzępek prawdziwych oraz osłabienie działania leków hamujących syntezę ergosterolu. Kaskada sygnalizacyjna z udziałem kalcyneuryny pośredniczy w regulacji efektorów, które po traktowaniu antymikotykami zachowują zdolność biosyntezy ergosterolu oraz ściany komórkowej (chityny,  $\beta$ -1,3-glukanu)<sup>(28)</sup>. Dodatkowo szlak kalcyneuryny bierze udział w programowanej śmierci komórek grzybiczych<sup>(28,29)</sup>. Delecja jednego z genów kodujących podjednostkę katalityczną lub regulatorową kalcyneuryny zwiększa wrażliwość grzybów na czynniki stresowe oraz znacznie obniża wirulencję komórek *C. albicans*<sup>(22)</sup>.

Na ścieżkę kalcyneuryny oddziałuje również białko szoku cieplnego 90 (*heat shock protein 90*, Hsp90), które w warunkach stresowych odpowiada za fałdowanie oraz stabilizację różnych białek regulatorowych<sup>(29)</sup>. W zależności od substratu Hsp90 wiąże się z nieaktywną lub aktywną formą białka. Odbywa się to na dwa sposoby: a) Hsp90 wiąże substrat i utrzymuje go w formie nieaktywnej do momentu wyzwolenia substratu z kompleksu przez sygnał stymulujący, co umożliwia zakończenie fałdowania; b) Hsp90 asystuje w końcowym fałdowaniu, formowaniu kompleksów i/lub ich utrzymywaniu dopiero po aktywacji substratu przez sygnał stymulujący<sup>(26)</sup>. Kalcyneuryna grzybicza należy do pierwszego typu substratów Hsp90, czyli jest stabilizowana przez Hsp90 w formie nieaktywnej, a jej aktywacja następuje po uwolnieniu z kompleksu kalcyneuryna–Hsp90<sup>(26)</sup>. Poprzez stabilizację kalcyneuryny Hsp90 przyczynia się do zwiększenia wirulencji szczepów chorobotwórczych

(tworzenie form inwazyjnych w biofilmie) oraz wpływa na zachowanie integralności ściany komórkowej<sup>(13,26)</sup>. Hamowanie funkcjonowania Hsp90 blokuje aktywację kalcyneuryny, zwiększając tym samym czułość *C. albicans* na leki przeciwgrzybiczne<sup>(26)</sup>.

Kalcyneuryna wydaje się więc atrakcyjnym celem dla nowych antymikotyków. Niestety obecnie dostępne inhibitory kalcyneuryny – takie jak cyklosporyna czy takrolimus – nie mogą zostać zatwierdzone jako leki przeciwgrzybicze ze względu na ich właściwości immunosupresyjne. Dlatego niezbędne jest poszukiwanie nowych, silniejszych inhibitorów kalcyneuryny grzybiczej, które nie indukują immunosupresji przez niespecyficzne wiązanie ludzkiej kalcyneuryny<sup>(22)</sup>.

## PODSUMOWANIE

Infekcje grzybicze stanowią zagrożenie dla osób z obniżoną odpornością, a wybór terapii ograniczony jest przez dostępność jedynie kilku grup związków przeciwgrzybiczych<sup>(11)</sup>. Niezadowalająca skuteczność dostępnych leków oraz częste występowanie mechanizmów oporności grzybów patogennych przyczyniają się do poszukiwania alternatyw terapeutycznych. Większość opisanych mechanizmów oporności *C. albicans* wynika z mutacji punktowych w enzymach będących celem antymikotyków lub w genach regulatorowych<sup>(12)</sup>. Najnowsze trendy sugerują zastosowanie terapii celowanej na cechy wirulencji lub szlaki komórkowe patogenów grzybiczych – osobno bądź w połączeniu ze znanymi antymikotykami<sup>(10)</sup>. W tym kontekście zahamowanie odpowiedzi stresowej grzybów może stanowić przełom w zwalczaniu zakażeń układowych o etiologii grzybiczej. Dlatego dogłębne zrozumienie szlaku kalcyneuryny oraz identyfikacja specyficznych dla grzybów domen są niezbędne do opracowania nowych skutecznych leków, których działanie jest ukierunkowane na patogen grzybiczy<sup>(22)</sup>.

### Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

### Podziękowania

MS oraz MG były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (nr projektu: 2014/15/N/NZ6/03710).

### Piśmiennictwo

1. Pfaller MA, Diekema DJ: Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133–163.
2. Bhatt VR, Viola GM, Ferrajoli A: Invasive fungal infections in acute leukemia. *Ther Adv Hematol* 2011; 2: 231–247.
3. Yapar N: Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Ther Clin Risk Manag* 2014; 10: 95–105.
4. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR et al.: Clinical practice guideline for the management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62: e1–e50.

5. Brown GD, Denning DW, Gow NA et al.: Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Sci Transl Med* 2012; 4: 165rv13.
6. Perea S, Patterson TF: Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 1073–1080.
7. Nobile CJ, Johnson AD: *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annu Rev Microbiol* 2015; 69: 71–92.
8. Kabir MA, Hussain MA, Ahmad Z: *Candida albicans*: a model organism for studying fungal pathogens. *ISRN Microbiol* 2012; 2012: 538694.
9. Roemer T, Krysan DJ: Antifungal drug development: challenges, unmet clinical needs, and new approaches. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; 4: a019703.
10. Mayer FL, Wilson D, Hube B: *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence* 2013; 4: 119–128.
11. Cannon RD, Lamping E, Holmes AR et al.: Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 291–321.
12. Sanglard D: Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. *Front Med* 2016; 3: 11.
13. Revie NM, Iyer KR, Robbins N et al.: Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. *Curr Opin Microbiol* 2018; 45: 70–76.
14. Vandeputte P, Ferrari S, Coste AT: Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. *Int J Microbiol* 2012; 2012: 713687.
15. Nawrot U: Echinokandyny – aktywność mikrobiologiczna, znaczenie w leczeniu i profilaktyce grzybic. *Forum Zakażeń* 2013; 4: 157–163.
16. Calandra T, Roberts JA, Antonelli M et al.: Diagnosis and management of invasive candidiasis in the ICU: an updated approach to an old enemy. *Crit Care* 2016; 20: 125.
17. Aoki W, Ueda M: Characterization of antimicrobial peptides toward the development of novel antibiotics. *Pharmaceuticals* 2013; 6: 1055–1081.
18. Neelabh, Singh K, Rani J: Sequential and structural aspects of antifungal peptides from animals, bacteria and fungi based on bioinformatics tools. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2016; 8: 85–101.
19. Wei CX, Bian M, Gong GH: Tetrazolium compounds: synthesis and applications in medicine. *Molecules* 2015; 20: 5528–5553.
20. Voitekovich SV, Ivashkevich OA, Gaponik PN: Synthesis, properties, and structure of tetrazoles: certain achievements and prospects. *Russ J Org Chem* 2013; 49: 635–654.
21. Malik MA, Al-Thabaiti SA, Malik MA: Synthesis, structure optimization and antifungal screening of novel tetrazole ring bearing acyl-hydrazones. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 10880–10898.
22. Juvvadi PR, Lee SC, Heitman J et al.: Calcineurin in fungal virulence and drug resistance: Prospects for harnessing targeted inhibition of calcineurin for an antifungal therapeutic approach. *Virulence* 2017; 17: 186–197.
23. Staniszevska M, Bondaryk M, Ochal Z: Susceptibility of *Candida albicans* to new synthetic sulfone derivatives. *Arch Pharm* 2015; 348: 132–143.
24. Staniszevska M, Bondaryk M, Kazek M et al.: Effect of serine protease KEX2 on *Candida albicans* virulence under halogenated methyl sulfones. *Future Microbiol* 2017; 12: 285–306.
25. Borys KM, Korzyński MD, Ochal Z: A simple and efficient synthesis of trihalomethyl and dihalonitromethyl aryl sulfones. *Tetrahedron Lett* 2012; 53: 6606–6610.
26. Picard D: Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1640–1648.
27. Blankenship JR, Wormley FL, Boyce MK et al.: Calcineurin is essential for *Candida albicans* survival in serum and virulence. *Eukaryot Cell* 2003; 2: 422–430.
28. Singh SD, Robbins N, Zaas AK et al.: Hsp90 governs echinocandin resistance in the pathogenic yeast *Candida albicans* via calcineurin. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000532.
29. Dai B, Wang Y, Li D et al.: Hsp90 is involved in apoptosis of *Candida albicans* by regulating the calcineurin-caspase apoptotic pathway. *PLoS One* 2012; 7: e45109.