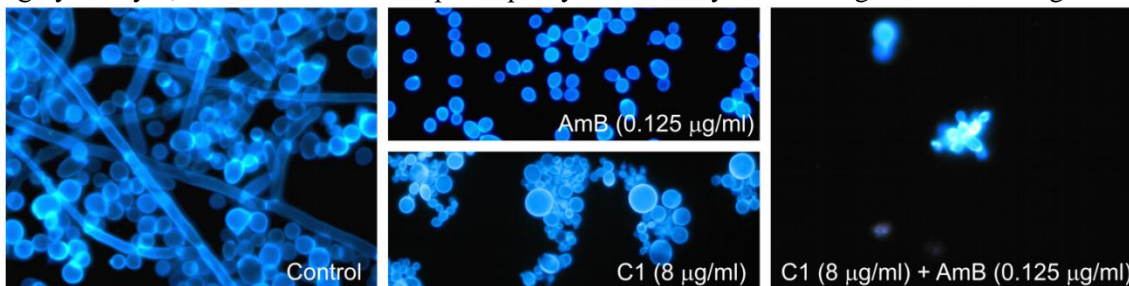


Grzyby są organizmami wszechobecnymi w środowisku, szacuje się, że wraz z każdym oddechem do organizmu człowieka dostaje się aż do 10 spor grzybowych. Częstość występowania i śmiertelność wywołana infekcjami grzybiczymi w ciągu ostatnich lat dramatycznie wzrosła. Co roku około 1,4 miliona osób na całym świecie umiera z powodu powikłań narządowych i ogólnoustrojowych infekcji grzybiczych, dorównując liczbie zgonów spowodowanych gruźlicą. Podstawową trudnością w poszukiwaniu nowych leków przeciwgrzybiczych jest fakt, że grzyby jako organizmy eukariotyczne mają niewiele szlaków metabolicznych innych niż te występujące w komórkach ludzkich. Obecnie dostępne leki przeciwgrzybicze działają poprzez hamowanie syntezy ergosterolu, lub tworzenia ściany komórkowej grzybów. Jednak większość tych środków ma działanie grzybostatyczne, a nie grzybobójcze, co prowadzi do powstawania coraz większej liczby szczepów opornych. W ostatnich latach szczepy odporne, a nawet wielolekooporne są coraz częściej izolowane od pacjentów, co może być przyczyną wysokiej śmiertelności związanej z infekcjami grzybiczymi. Amfoterycyna B (AmB) jest złotym standardem w leczeniu ciężkich grzybic systemowych, o szerokim spektrum działania i bardzo rzadkiej oporności. Dlatego też kluczowym i niezbędnym zadaniem staje się opracowanie nowych formuł leków grzybobójczych opartych na AmB. Najpoważniejszym ograniczeniem w stosowaniu AmB jest jej wysoka toksyczność, dlatego też należy dążyć do ograniczenia jej dawki. Naukowcy wciąż intensywnie poszukują mniej toksycznych formułacji AmB, jednak dotychczas nie znaleziono optymalnego rozwiązania, skutecznie zmniejszającego toksyczność tego leku, przy zachowaniu wysokiej skuteczności przeciwgrzybiczej. Dobrym podejściem wydaje się stosowanie terapii łączonej, w której dwie substancje działające na inny szlak metaboliczny kumulowałyby swój efekt grzybobójczy. W przypadku AmB taka kombinowana terapia napotyka jednak wiele trudności, ponieważ podstawowe grupy leków przeciwgrzybiczych działają poprzez hamowanie biosyntezy ergosterolu, a AmB wywołuje swój efekt tworząc kompleksy z ergosterolem w błonie komórkowej. Często więc występuje zjawisko antagonizmu lub braku pozytywnych interakcji AmB z innymi lekami przeciwgrzybiczymi.

Nową i słabo przebadaną grupą substancji przeciwgrzybiczych są pochodne 1,3,4-tiadiazoli. Badania wstępne wykazały, że niektóre związki z tej grupy wykazują silny efekt synergistyczny z AmB (łączny efekt działania dwóch substancji jest silniejszy niż suma działania każdej z nich), pozwalający na zmniejszenie jej dawki nawet kilkunastokrotnie (Rys. 1). Dalsze badania wykazały, że zarówno same 1,3,4-tiadiazole w szerokim zakresie stężeń, jak i ich kombinacje z niskimi dawkami AmB nie wykazują cytotoxycznosci wobec komórek ludzkich *in vitro*. Mechanizm działania przeciwgrzybiczego pochodnych 1,3,4-tiadiazoli nie został dotychczas poznany, jednak badania wstępne wykazały, że związki te nie zmniejszają poziomu ergosterolu w komórkach grzybowych. Wyniki te pozwalają postawić hipotezę, że szczepy patogenów grzybowych odporne na azole nie będą wykazywać krzyżowej oporności na pochodne 1,3,4-tiadiazoli. Opracowana kompozycja AmB z wybranymi pochodnymi 1,3,4-tiadiazoli może być skutecznym lekiem przeciwgrzybiczym, również wobec szczepów opornych i nietoksyczna dla organizmu ludzkiego.



Rys. 1. Komórki *C. albicans* kontrolne oraz traktowane AmB lub związkiem C1 oddzielnie lub kombinacją AmB i C1. Mikrofotografia z mikroskopu fluorescencyjnego; barwienie kalkofluorem; powiększenie 600 x.

Kolejnym istotnym problemem w praktyce diagnozowania i leczenia zakażeń grzybiczych jest określenie wrażliwości izolatów odpowiedzialnych za infekcję. Obecnie w tym celu konieczne jest wykonanie klasycznych antybiogramów, co jest czasochłonne i opóźnia rozpoczęcie właściwego leczenia. W ramach projektu planujemy wykonanie badań wrażliwości wyizolowanych szczepów na podstawowe leki przeciwgrzybicze (flukonazol, itraconazol, worikonazol, flucytozynę i echinokandyny) oraz na kompozycję AmB z wybranymi pochodnymi 1,3,4-tiadiazoli z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni FTIR (Fourier transform infrared). W metodzie FTIR każda biocząsteczka daje specyficzny spektralny „odcisk palca”, który jest odzwierciedleniem zespołu specyficznych drgań wiązań kowalencyjnych. Metodą tą można również uzyskać charakterystyczne spektralne widmo całych nienaruszonych komórek mikroorganizmu, które odzwierciedla ogólną molekularną kompozycję próbki. Nowym podejściem proponowanym w naszym projekcie jest badanie charakterystycznych zmian w widmie spektralnym komórek grzybowych po krótkim czasie od zastosowania antybiotyku. Takie podejście pozwoli na opracowanie szybkiego testu na wykrywanie wrażliwości/oporności wyizolowanego szczepu grzybowego na dostępne antybiotyki.