

Grzybice są dość powszechnymi chorobami zwierząt i ludzi. Wiele doniesień wskazuje, że cierpi na nie ponad miliard ludzi na całym świecie. Wśród patogenów powodujących grzybice ważne miejsce zajmują gatunki drożdżopodobne odpowiedzialne za wiele grzybic powierzchniowych oraz infekcje ogólnoustrojowe. Drożdżaki to najczęściej mikroorganizmy oportunistyczne, wywołujące objawy choroby w sytuacji gdy wymykają się spod kontroli układu odpornościowego gospodarza. Mimo to coraz częściej obserwowane są grzybice zarówno u ludzi, jak i zwierząt. Grzyby, podobnie jak ludzie, należą do organizmów eukariotycznych, skutkiem czego są liczne podobieństwa w metabolizmie i strukturze komórkowej. Niestety jest to przyczyną ograniczeń w możliwościach obrony w walce z grzybicami. Z tego powodu oporność na leki, coraz powszechniejsza wśród gatunków drożdżaków, jest szczególnie niebezpiecznym zjawiskiem, które wymaga poznania.

Jedną z najczęściej stosowanych grup leków przeciwgrzybiczych są polieny, które w medycynie obecne są od połowy XX wieku. Środki te są często stosowane w leczeniu grzybic, głównie ze względu na ich szerokie spektrum działania, którego mechanizm opiera się na zdolności do uszkodzania błon komórek grzybów i przyspieszeniu wytwarzania wolnych rodników. Dane z Medicare & Medicaid Services pokazują, że w latach 1991–2009 polieny były drugą z najczęściej przepisywanych grup leków przeciwgrzybiczych w USA, a na ich zakup wydano aż 490 milionów USD. W przypadku grzybic powierzchniowych najczęściej stosuje się nystatynę i natamycynę, podczas gdy grzybice ogólnoustrojowe wymagają zastosowania amfoterycyny B. Na rynku farmaceutycznym dostępnych jest wiele preparatów na bazie tych polienów i są dostępne bez recepty. Powszechny i niekontrolowany dostęp do tych preparatów może być przyczyną selekcji szczepów opornych na leki i dalszego rozwoju oporności. Kwestia patogenów jest bardzo ważnym problemem badawczym w biologii, medycynie i weterynarii. Wśród potencjalnie patogennych grzybów dla ludzi i zwierząt ważną pozycję zajmują gatunki drożdżopodobne, zwłaszcza z rodzaju *Candida* i *Malassezia*. *Malassezia pachydermatis* to gatunek, który stanowi znaczną część fizjologicznej bioty skóry i błon śluzowych większości ssaków i ptaków, ale może także powodować zapalenie skóry, błon śluzowych i fungemię u zwierząt stałocieplnych, a nawet ludzi. Przyczyny wystąpienia objawów choroby są głównie związane z zaburzeniami funkcjonowania układu odpornościowego gospodarza. Ostatnio pojawiły się doniesienia na temat wysokiego poziomu różnorodności wśród tych grzybów. Szczepy wywołujące objawy choroby prawdopodobnie mogą mieć specyficzne cechy, które odróżniają je od szczepów typowo komensalnych. Dlatego podczas określania przyczyny i etiologii choroby, oprócz stanu układu odpornościowego gospodarza należy wziąć pod uwagę indywidualne cechy szczepu.

Planowane badania oparte są na naszych wcześniejszych obserwacjach dotyczących dużej zmienności genetycznej wśród szczepów *M. pachydermatis* izolowanych zarówno od zwierząt chorych, jak i zdrowych. Wstępny eksperyment przeprowadzony na grupie szczepów narażonych na działanie niskich stężeń nystatyny i natamycyny wskazał na możliwość rozwoju oporności w przypadku wybranych szczepów. Wyniki te dają możliwość zbudowania modelu nabywania oporności na nystatynę i natamycynę u *M. pachydermatis* oraz śledzenia zmian zachodzących podczas tego procesu u poszczególnych szczepów w trakcie trwania długoterminowego eksperymentu. Zakładamy, że po selekcji pod kątem określonych mutacji punktowych mogą następować zmiany w ekspresji genów i aktywności enzymów zaangażowanych w organizację struktury błony komórkowej grzyba. W konsekwencji może rozwinąć się genetycznie utrwalona oporność. Dlatego celem projektu jest eksperymentalne odtworzenie procesu nabywania oporności na wybrane polieny przez *M. pachydermatis*. Dzięki dostępowi do materiału z początku oraz kolejnych etapów eksperymentu, możliwe będzie porównanie wybranych cech szczepów na poziomie genetycznym, biochemicznym i proteomicznym. Umożliwi to nam ustalenie sekwencji zdarzeń prowadzących do ewolucji oporności grzybów na badane środki przeciwgrzybicze.

Do tej pory większość badaczy opierała swoje badania dotyczące lekooporności na porównaniu szczepów o różnej wrażliwości na poszczególne środki przeciwgrzybicze. Nasz projekt obejmuje budowę eksperymentalnego modelu nabywania oporności na polieny w wyniku wielokrotnego pasażowania wybranych szczepów *M. pachydermatis* na podłożach zawierających podprogowe stężenia poszczególnych antymykotyków. Ocenimy proces nabywania lekooporności na podstawie zmian wartości MIC (minimalnego stężenia hamującego) w stosunku do poszczególnych środków przeciwgrzybiczych w kulturach szczepów *M. pachydermatis*. W celu wyjaśnienia mechanizmu tego zjawiska na poziomie genetycznym i metabolicznym, planujemy porównać poszczególne szczepy wykorzystując materiał zgromadzony na początku eksperymentu, jak i po rozwinięciu znacznej oporności. Oprócz wartości poznawczych planowane badania mogą mieć znaczenie aplikacyjne, szczególnie w kontekście poszukiwania sposobów przeciwdziałania zjawisku lekooporności. Ponadto zaletą zaplanowanych badań jest uzyskanie konkretnego modelu nabywania oporności przez grzyby, co w tym momencie jest rzeczą unikalną i zapewnia szerokie możliwości badania procesu nabywania oporności na leki wśród gatunków drożdżopodobnych.