

## НОВІ СТРАТЕГІЇ У БОРОТБІ ЗІ ЗБУДНИКАМИ ГРИБКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

Гринзовська А.А. <https://orcid.org/0000-0002-2273-3331>

Бобир В.В. <https://orcid.org/0000-0002-8310-8011>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

*hrynzovska@nmu.ua*

**Актуальність.** Обумовлена тим що виникла тенденція зростання резистентності до існуючих препаратів для лікування грибкових захворювань. Вирішити дану проблематику можливо лише розробляючи нові формули протигрибкових засобів або вдосконалюючи існуючі; вивчаючи механізми взаємодії препаратів з клітинними стінками грибів та їх екзополісахаридними матрицями; вдосконалюючи методи доставки протигрибкових засобів, такі як DectiSomes, з метою максимальної ефективності та мінімізації побічних ефектів; розширюючи розуміння механізмів імунної відповіді на грибкові інфекції та розробляючи вакцини для профілактики цих захворювань. Дані дослідження спрямовані на покращення методів діагностики, лікування та профілактики грибкових інфекцій з метою підвищення якості життя пацієнтів та зниження загального впливу цих захворювань на громадське здоров'я.

**Ціль:** полягає в оцінці нових стратегій лікування грибкових інфекцій з метою підвищення ефективності протигрибкових засобів, зменшення їх токсичності та якомога повільнішого формування до них резистентності.

**Матеріали та методи.** Матеріалами даного дослідження слугували публікації результатів сучасних наукових досліджень щодо вивчення даної тематики. Авторами було опрацьовано 107 джерел з яких було відібрано 45 зважаючи на наукову новизну та результати дослідження. Методами для проведення наукового дослідження стали: системний підхід та системний аналіз, літературний та критичний аналіз.

**Результати дослідження** доводять перспективи розвитку нових стратегій та методик протигрибкової терапії. За рахунок аналізу результатів клінічних досліджень, що включають оцінку ефективності різних протигрибкових препаратів, можливо визначити, які з них є найбільш ефективними в певних умовах та для конкретних типів грибкових інфекцій. Нові методики базовані на принципі доставки чи дії препарату безпосередньо до цільової області, що дозволяє знизити загальне навантаження на організм. За рахунок кращого проникнення лікарських засобів до шкіри та тканин, можливий кращий контроль над грибковою інфекцією та прискорений процес лікування. А оцінка побічних реакцій та рівня толерантності пацієнтів до різних препаратів допомагає вибрати ті протигрибкові засоби, які найбільш безпечні та комфортні для застосування.

**Висновок.** Грибкові інфекції продовжують бути серйозною проблемою для громадського здоров'я і розробка нових методів лікування та профілактики є надзвичайно важливою. В цілому, дослідження в цих областях може допомогти розробити нові терапевтичні стратегії, які будуть більш ефективними та безпечними для лікування грибкових інфекцій, що становлять загрозу людства.

**Ключові слова:** грибкові інфекції, протигрибкові засоби, резистентність, методи діагностики, лікування, громадське здоров'я.

**Актуальність.** Враховуючи зростаючу смертність від грибкових захворювань, низька ефективність препаратів пояснюється не лише обмеженістю у їх виборі, а й іншими факторами, такими як токсичність та формування резистентності [1].

Протигрибкові препарати, які зараз використовуються в клінічній практиці, не завжди взаємодіють лише з клітинами грибів, через що виникають нецільові ефекти, які випадковим чином розподіляються між клітинами збудника та хворого, здійснюючи токсичний вплив на

організм та істотно обмежуючи ефективність протигрибкової терапії [2].

Найбільш поширеними протигрибковими препаратами для місцевого застосування є препарати класу азолів та їх похідні. Разом з тим, сьогодні показано, що мікросопічні гриби здатні формувати резистентність до азольних препаратів через посилення регуляції транспортерів ліків. Посилення регуляції CDR1 / CDR2 і MDR1 досягається за допомогою точкових мутацій у факторах транскрипції TAC1 і MRR1. Подібним чином грибкові клітини

можуть зменшувати спорідненість зв'язування ланостеролу 14- $\alpha$ -деметиلاзи з препаратом через точкові мутації в ERG11, а також підвищувати концентрацію цільового ферменту шляхом активації ERG11 [3]. Ми є свідками збільшення азолостійких штамів грибів у всьому світі. Наприклад, у Нідерландах частота резистентних штамів *Aspergillus fumigatus* зростає з 0,79% за 1996–2001 рр. до 7,04% за 2012–2016 рр. [4].

За останні кілька років було досягнуто значного прогресу в галузі вивчення протигрибкових препаратів, однак, обмежений відсоток нових сполук, які зараз проходять клінічні дослідження, свідчить про необхідність інтенсифікації даного процесу як зараз, так і в майбутньому [5].

**Ціль:** полягає в оцінці нових стратегій лікування грибкових інфекцій з метою підвищення ефективності протигрибкових засобів, зменшення їх токсичності та якомога повільнішого формування до них резистентності.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Авторами було опрацьовано 107 джерел з яких було відібрано 45 зважаючи на наукову новизну та результати дослідження. У процесі підготовки статті використовувалися наступні методи:

1. Літературний аналіз: ретельний аналіз наявної літератури, включаючи наукові статті, книги, патенти із відповідної області. Вивчені результати попередніх досліджень, відсортовані згідно тематики, методології та інших параметрів.
2. Систематизація і узагальнення даних: визначення основних тенденцій, виявлення недоліків і встановлення потреби у нових дослідженнях.
3. Критичний аналіз: оцінювання якості і достовірності даних, використаних у літературі. Розгляд сильних та слабких сторін кожного дослідження, а також визначення можливих обмежень методології.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Останнім часом відмічається зростання показників протигрибкової резистентності патогенних грибів. Наприклад, дослідження в Барі (Італія) у 2018 році зафіксували зростання кількості резистентних до флуконазолу штамів *C. albicans* (з 2,3% у 2015 році до 14,2%) [6]. Мультирезистентні види *Candida auris*, які не так давно були виділені, через свою здатність швидко формувати резистентність стали значною загрозою для людства. За останніми даними 79,6% ізолятів *C. auris* є резистентними до флуконазолу, 34,8% і 23,3% резистентні до амфотерицину В та вориконазолу відповідно [7]. Резистентність до протимікробних засобів у царстві грибів може бути викликана різними факторами [8]. За останні кілька років наші знання щодо структурних і функціональних компонентів клітин грибів різко зросли. Зараз ми як ніколи знайомі з різноманітним спектром факторів вірулентності, які клітини грибів використовують в патогенезі інфекції. Усі ці знання можуть бути використані для розробки протигрибкових препаратів, які були б орієнтовані на деякі нові протигрибкові мішені. На рисунку 1 представлені основні стратегії, які можуть забезпечити ефективну протигрибкову терапію і стати важливим фактором у боротьбі з грибковими інфекціями.

### 1. Вплив на клітинну стінку грибів

Клітинна стінка грибів є важливою мішенню для розробки протигрибкових препаратів. Склад клітинної стінки грибка різниться між видами, але основним компонентом є полісахарид  $\beta$ -(1,3)-глюкан, ковалентно зшитий з хітином, утворюючи первинну структуру каркаса [9].

Манопротеїни клітинної стінки можна використовувати як потенційні протигрибкові агенти, хоча й з меншим успіхом, порівняно з розробкою ліків, спрямованих на синтез  $\beta$ -1,3-глюкану [10]. Деякі протигрибкові препарати, які присутні на ринку, вже спрямовані на інгібування різних аспектів синтезу клітинної стінки. Наприклад, *Nikkomycin Z* пригнічує утворення структури хітину, процес, необхідний для грибів, але не для ссавців. Описані інгібітори  $\beta$ (1,3)-D-глюкансинтаз належать до



Рис. 1. Сучасні стратегії протигрибкової терапії

циклічних ліпопептидів, гліколіпідів і кислих терпеноїдів [11].

Хоча інгібування  $\beta(1,3)$ -D-глюкансинтази є відомим способом дії ряду ехінокандинів, дослідження нових інгібіторів тривають до сьогодні. Ibrexafungerp (раніше SCY-078 або MK-3118) відомий як перший у своєму класі протигрибковий тритерпеноїд, який інгібує біосинтез  $\beta(1,3)$ -D-глюкану в клітинній стінці грибка. Ібрексафунгерп та ехінокандін – мішені для  $\beta(1,3)$ -D-глюкансинтази не є однаково, що означає дуже обмежену перехресну резистентність між резистентними до ехінокандину та ібрексафунгерп штамми [12].

Ге та ін. показали, що 3-заміщені похідні аміно-4-гідроксикумарину можуть знижувати рівень хітину. Протигрибкові агенти, які можуть пригнічувати синтез якоря GPI, це APX001A (молекула на основі піридину 2-аміну), феноксиацетанлід (гепінацин), OGT2468 (похідні родамін-3-оцтової кислоти) і M720. У низьких концентраціях вони ефективні проти видів *Fusarium*, *Aspergillus*, *Candida* та *Scedosporium*. APX001A ефективний проти стійких до каспофунгіну *C. albicans* і *C. auris* [13].

## 2. Модуляція біосинтезу ергостеролу

Асортимент препаратів, спрямованих на біосинтез ергостеролу, присутніх на фармацевтичному ринку, включає азоли, спрямовані на ланостерол 14- $\alpha$  деметилазу; полієнові препарати, які руйнують ергостероли, розподілені на мембрані; і аліламіни, які є інгібіторами скваленсинтази (Erg1p) [18]. Надмірна експресія транскриптів ERG11 призводить до зниження сприйнятливості до азолів і може бути наслідком або мутацій посилення функції в регуляторі транскрипції Urc2, або збільшення числа копій хромосоми 5 (на якій знаходиться ERG11). Мутації в ERG11 є частими серед азолостійких клінічних штамів грибів [14].

Апігенін, рутин і пальмітинова кислота знижували експресію ERG11 [15].

Мітохондрії в якості потенційних мішеней для розробки нових протигрибкових засобів були відкриті не так давно, вони необхідні для росту клітин і виживання більшості патогенних грибів [16]. Обробка *C. albicans* розмариновою кислотою значно знизил активність мітохондрій *C. albicans*. За допомогою аналізу МТТ було показано, що при застосуванні розмаринової кислоти (0,1 мг/мл) мітохондріаль-

на активність знизилася більш ніж на 50% [17]. Інший природний продукт – берберин, накопичується в мітохондріях грибів і перешкоджає їх діяльності через погіршення потенціалу мітохондріальної мембрани та мітохондріального комплексу. Ця сполука також може захоплювати надмірну експресію Mdr1p хоча і знижує протигрибкову стійкість у *S. albicans*. Крім того, застосування берберину було ефективним також *in vivo*, оскільки воно може подовжити час виживання мишей із розповсюдженням через кров мультирезистентного кандидозу Mdr1p із гіперекспресією [18].

Екстракт насіння папаї (*Carica papaya*) проявляв інгібуючі властивості щодо *S. albicans* за допомогою різних механізмів, включаючи накопичення активних форм кисню та руйнування потенціалу мітохондріальної мембрани [19].

Протигрибковий ефект хілосціфенолу А, природної невеликої молекули, виділеної з китайських печіночників, підкреслюється мінімальною інгібаторною концентрацією 8–32 мкг/мл і фунгіцидною активністю як у планктонному стані, так і в зрілих біоплівках *S. albicans*. Фунгіцидний ефект хілосціфенолу А підтверджено *in vivo* на *Caenorhabditis elegans*. Ця сполука індукує гіперполяризацію потенціалу мітохондріальної мембрани, збільшення виробництва АТФ і внутрішньоклітинного накопичення АФК, а також агрегований розподіл Tom70, що вказує на мітохондріальну дисфункцію як механізм активності [20].

Калопанаксапонін А, тритерпеноїдний сапонін із кори стебла *Kalorapax pictus* здійснює свою протигрибкову дію шляхом збільшення генерації АФК. Надлишкові АФК перешкоджають дихальним ланцюгам і згодом викликають дисфункцію мітохондрій. Фунгіцидна активність калопанаксапоніну А також базується на перешкоджанні проникності клітинної мембрани [21].

Похідні мейфлорину в їхніх субінгібіторних концентраціях пригнічують експресію факторів вірулентності грибів, таких як філаментация *S. albicans* і утворення/меланізація капсули *S. neoformans*. Механізм дії цих похідних є багатоцільовим і базується на порушенні як

мітохондріальних, так і вакуолярних функцій. Сполука ариламідин Т-2307 може вибірково порушувати мітохондріальну активність у дріжджів за допомогою механізму, заснованого на інгібуванні комплексів дихального ланцюга. Ця сполука діє шляхом інгібування комплексів дихальних ланцюгів III і IV як у *Saccharomyces cerevisiae*, так і в *S. albicans* і згодом індукує зниження внутрішньоклітинного рівня АТФ у дріжджових клітинах. Т-2307 є селективним інгібітором і мало впливає на комплекси дихальних ланцюгів мітохондрій [22]. Пептид ТоАР2D виявляв протигрибкову активність щодо *Sporothrix globosa*; він пригнічував ріст *S. globosa*, посилював апоптоз і індукував деформацію та розрив клітин грибів. Лікування ТоАР2D знизило рівень потенціалу мітохондріальної мембрани та підвищило рівень ROS. Його протигрибковий потенціал був підтверджений у дослідженні *in vivo* на мишах [23].

### 3. Інгібіція клітинного ефлюксу

Одним із механізмів протигрибкової резистентності штамів *Candida*, стійких до азольних протигрибкових препаратів, є активація АТФ-зв'язуючих генів касетного транспортера CDR1 і CDR2. Нові агенти, які будуть націлені на грибові ефлюксні насоси, можуть стати основою для комбінованої терапії, що посилює азол [24].

Подібним чином астрагалін також був здатний знижувати регуляцію CDR1. Інший флавоноїд, кемпферол, може знижувати регуляцію генів CDR1 і CDR2 у стійких до флуконазолу *S. albicans* [25]. Антимікробна дія гідрохлориду берберину, традиційного для китайської медицини, пов'язана зі зменшенням внутрішньоклітинного відтоку флуконазолу шляхом зниження регуляції CDR1, тоді як поліненасичені жирні кислоти можуть зменшувати відтік із клітин *S. krusei*. Похідні бензоксазолу можуть перешкоджати як ефлюксу клітин, так і синтезу ергостеролу в *S. albicans* [26].

### 4. Вплив на різні метаболічні шляхи та ферменти

Для розробки нових протигрибкових стратегій можна націлитися на різні метаболічні шляхи, які включають метаболізм N-ацетил-

глюкозаміну, метаболізм трегалози, біосинтез ліпідів та інші важливі процеси в клітинах грибів [27]. Крім того, різні ферменти в грибкових клітинах є одними з потенційних мішеней для розробки ліків, оскільки вони є незамінними для росту грибів і вірулентності [28]. Ряд продуктів досліджувався як інгібітори метаболічних шляхів та/або грибкових ферментів, деякі з них представлені в таблиці 1. Зокрема вказано, що антимікробний пептид, AMP-17, перешкоджає основним метаболічним шляхам *S. albicans*, включаючи ті, що пов'язані з окисним фосфорилуванням, деградацією РНК, метаболізмом пропаноату та метаболізмом жирних кислот [28]. Отримані з аполіпопротеїну В (ApoB) пептиди також виявляли протигрибкові властивості [29]. Аналіз дії тiazолідинонів, проведений за допомогою молекулярного докінгу, молекулярної динаміки та аналізів інгібування ферментів, показав, що вони можуть інгібувати фермент карбоангідразу [30]. Дослідження Venkata et al. і Ansari et al. довели можливість інгібування гліоксилатного циклу *S. albicans* ваніліном і монотерпеноїдом перилового спирту [31].

### 5. Боротьба з різними аспектами вірулентності

Утворюючи біоплівки, грибкові патогени здатні уникнути знищення імунними клітинами, такими як нейтрофіли та моноцити. Для підвищення стійкості біоплівки гриби використовують низку механізмів — високу щільність клітин, обмеження росту та поживних речовин, існування персистентних клітин, експресію генів протигрибкової стійкості та збільшення вмісту стеролів у клітинній мембрані. Стійкість біоплівок також посилюється позаклітинним матриксом завдяки його складній структурі, що складається з білків, вуглеводів, ліпідів і позаклітинної ДНК [32].

Багато патогенних грибів можуть змінювати свою морфологію — ознака, яка зазвичай тісно пов'язана з їх вірулентністю. Морфологічні зміни є дуже звичною та оперативною стратегією виживання численних патогенів в організмах ссавців. Основні грибкові патогени можуть рости в різних морфологічних формах, включаючи дріжджі, псевдогіфи та

гіфи. Шлях сAMP-РКА (циклічна аденозин-монофосфат-протеїнкіназа А) і шляхи молекулярного шаперону Hsp90 використовуються для контролю цих морфологічних змін у багатьох патогенних для людини грибах [33]. Для *S. albicans* визначальною характеристикою є його здатність переключатися між дріжджами, псевдогіфами та гіфами під час інфекції та хвороби. Гіфальна форма служить основою для біоплівок і пов'язана з вірулентністю даних мікроорганізмів [34].

Різні продукти, в тому числі з природних джерел, досі вивчалися через їхню антибіоплівкову активність, однак пошуки ефективних антибіоплівкових агентів тривають до сьогодні. Через стійкість біоплівки існує нагальна потреба в розробці протигрибкових препаратів, які могли б впоратися зі здатністю грибкових патогенів їх утворювати. За даними останніх досліджень, потенційними інгібіторами біоплівки можуть бути різноманітні речовини. Розмаринова кислота, рослинна поліфенольна сполука, може запобігти утворенню біоплівки через помірне зниження вмісту екзополісахариду (EPS) у матриці біоплівки [18]. Подібним чином каннабідіол – неспсихоактивний фітоканабіноїд, що виробляється *Cannabis sativa*, і уснінова кислота – вторинний метаболіт лишайника, зменшують товщину біоплівки [35].

Екстракт *Artemisia absinthium* продемонстрував антибіоплівкову активність – зменшення виробництва EPS. Механізм антимікробної активності *A. absinthium* полягає в порушенні цілісності мембрани. Подібним чином, екстракт, отриманий з *Opuntia spinosa*, мав антибіоплівковий потенціал проти деяких штамів *Candida*. Антимікробний пептид VLL-28, виділений з фактора транскрипції археїв, також значно зменшував здатність грибів утворювати біоплівки, тоді як його протигрибкова активність була заснована на пошкодженні клітинної стінки [36].

Фотодинамічна терапія може ефективно впливати на біоплівки, утворені *S. auris*, особливо в поєднанні з фотосенсибілізуючими сполуками. Наноконкомплекс фітохімічного куркуміну та софороліпиду впливає на біоплівку та гіфи *S. albicans* за допомогою різноманітних

механізмів, включаючи пригнічення зв'язаних генів вірулентності та резистентності, таких як регуляторні гени гіф *SAP4*, *HWP1* та *HYR1*, а також *RAS1* та *ERG11*. Катехол при застосуванні в концентраціях 2–256 мкг/мл міг, залежно від дози, пригнічувати утворення біоплівки та гіф *C. albicans*, він також пригнічував гідролази, що секретуються факторами вірулентності і знижував рівні EPS у матриці біоплівки. Дані КППЦР показали, що застосування катехолу індукує значне зниження регуляції *RAS1*, *HWP1* і *ALS3*, генів, пов'язаних із грибовим патогенезом. Було оцінено антигіфальну активність камфори (0,125 мг/мл) і евкаліптолу (23 мг/мл) проти клінічного ізоляту *C. albicans*. Обидві сполуки викликали помітне зменшення кількості гіфальних клітин і блокували гіфальний перехід. В інших дослідженнях показано повне інгібування гіф *C. albicans* 0,01% камфорою [37].

Біатріоспорин D — фенольна сполука, виділена з ендоліхенічного гриба *Biatriospora* sp. Він впливає на різні прояви вірулентності *C. albicans*, включаючи адгезію, утворення гіф і біоплівки. Дослідження подальших антигіфальних механізмів показали, що біатріоспорин D регулює шлях *Ras1*-сАМР-*Efg1*, щоб пригнічувати утворення гіф. Інший природний продукт, емодин (1,3,8-тригідрокси-6-метилантрахінон), виділений із кореневищ *Rheum palmatum* зменшує ріст грибкових гіф у *C. albicans*. Софороліпіди, гліколіпідні біосурфактанти, виділені з *Strmerella bombicola* і шиконін, червоний пігмент, виділений з *Lithospermum erythrorhizon*, також мали антигіфальний потенціал. Наке та ін. пояснюють інгібуючу дію софороліпідів на ріст гіф порушенням експресії специфічних для гіф генів *HWP1*, *ALS1*, *ALS3*, *ECE1* і *SAP4* [38].

Еукаробустол Е володів протигрибовою дією проти *C. albicans* і, як було виявлено, знижує регуляцію генів, залучених до біосинтезу ергостеролу. Ця сполука блокує перехід дріжджів у гіфу та зменшує гідрофобність клітинної поверхні клітин біоплівки. Інші похідні пептидів, багаті на цистеїн (NCR), пептиди NCR335 і NCR169, можуть зменшити утворення біоплівки та розвиток гіф досліджуваних штамів *Candida* [39].

Згідно з дослідженням Folly et al., протигрибову активність етанольного екстракту листя *Xylosma prockia* та його фракцій було вперше досліджено проти *C. neoformans* та *C. gattii*. У згаданому дослідженні морфометричний аналіз показав, що фракція етилацетату викликає зниження співвідношення поверхня/об'єм для *C. gattii* та *C. neoformans*, а також знижує рівні ергостеролу в клітинній мембрані гриба. Mayer і Kronstad продемонстрували інгібуючий ефект *Bacillus safensis*, який потужно блокує кілька ключових факторів вірулентності *C. neoformans*, таких як зменшення загального розміру клітини та повне блокування утворення грибкової капсули [40].

## 6. Протигрибові вакцини

Одним із рішень для пацієнтів, які борються з високим ризиком кандидозу, може бути профілактична вакцинація — довготривалий захід, який використовується для зменшення частоти загострень грибкових інфекцій. Існують різні виклики в цій галузі досліджень, включаючи широку варіативність і пластичність грибів, наявність попередньо встановленої імунологічної толерантності, а також проблеми з просуванням захисних реакцій пам'яті у пацієнтів, які борються з порушенням адаптивного імунітету [41].

Дослідження *in vivo* на мишах показали високу ефективність вакцин проти грибкових патогенів, включаючи види *Candida*, *Cryptococcus* і *Aspergillus*. Допоміжні результати були отримані за допомогою вакцин, виготовлених із живих ослаблених і вбитих грибів, «сирих» екстрактів, композицій рекомбінантних субодиниць, а також вакцин з нуклеїновою кислотою, як розглянуто вище. Імунотерапевтичний підхід, заснований на пептидній вакцині, використовувався в дослідженні *in silico*, під час якого проводився скринінг протеома *Candida* та ідентифіковано найбільш імунодомінантні епітопи HLA класу I, HLA класу II та В-клітин. В інших дослідженнях виділено білки адгезину *C. auris* із послідовністю та структурною гомологією *Als3*, основного адгезину/інвазину *C. albicans*. Коли мишей вакцинували NDV-3A (вакцина на основі N-кінця білка *Als3*, сформованого з галу-

ном), вони виробляли анти-Als3p антитіла, які розпізнавали *S. auris* *in vitro*, порушували його здатність утворювати біоплівки та посилювали вплив макрофагів задля знищення грибка. Подібним чином вакцинація NDV-3A індукувала значні рівні протигрибкової імунної відповіді та захищала мишей із пригніченим імунитетом від інфекції *S. auris* [72]. Вакцинація мишей Sap2-parapsilosis, рекомбінантною секретованою аспартилпротеазою (rSap2), отриманою з *Candida parapsilosis*, призводила до збільшення виживаності під час системної інфекції *S. tropicalis*. Ця вакцина індукує як гуморальний, так і клітинний імунитет і вона забезпечує більш високі титри Sap2-індукованих антитіл, які корисні для боротьби з системним кандидозом. Також були проведені дослідження вакцини проти *Aspergillus fumigatus*. Вважається, що підвищена імуногенність, індукована інактивованими дріжджовими клітинами *fbp1*  $\Delta$ , може забезпечити захист від наступної інфекції вірулентним вихідним штамом. Убиті *fbp1*  $\Delta$ -клітини також захищали мишей із виснаженими CD4 + Т-клітинами та забезпечували значний перехресний захист від ряду інвазивних грибкових патогенів, таких як *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii* та *A. fumigatus*, разом із частковим захистом від *S. albicans* [42].

### 7. Трансформаційна технологія націлювання

DectiSomes — це ліпосоми, наповнені лікарськими засобами, вкриті білками, які націлюють їх на клітинні стінки грибів та їх екзополісахаридні матриці. DectiSomes наближає протигрибкові препарати до клітин грибка, щоб підвищити їх локальну концентрацію та знизити їх концентрацію в клітинах хворого, тим самим знижуючи ефективну дозу препарату в мг/кг, необхідну для боротьби з патогеном, зменшуючи токсичний вплив на організм та дозволяючи тимчасово розширені схеми лікування [43].

В організмі людини дектин-1 (англ. Dectin-1) і дектин-2 (англ. Dectin-2) є рецепторами збудника лектину С-типу, які реагують на грибові інфекції і сигналізують імунній системі про поточну інфекцію. DectiSomes використовує

дані рецептори для пан-протигрибкового націлювання ліпосом, заповнених лікарськими засобами, на бета-глюкан або альфа-маннани олігосахариди грибів. Ліпосоми, націлені на дектин, специфічно зв'язуються з клітинними стінками та секретованими матрицями екзополісахаридів еволюційно різноманітних грибкових патогенів, включаючи *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* і *Cryptococcus neoformans* [44].

Доказ того, що DectiSomes є більш ефективними, ніж нецільові препарати, вперше був отриманий в дослідженнях зв'язування та знищення грибкових клітин *in vitro*. DEC1-AmB-LL та DEC2-AmB-LL зв'язуються з клітинними стінками та ефективніше з матрицями екзополісахаридів *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* та *Cryptococcus neoformans*, вирощених *in vitro*, у 50–200 разів сильніше, ніж нецільові AmB-LL. Ліпосоми, навантажені AmB, покриті дектином-2 (DEC2-AmB-LL), зв'язуються з екзополісахаридом, що виділяється *A. fumigatus*. DEC2-AmB-LL зв'язуються на порядки більш ефективно з *A. fumigatus* на всіх стадіях розвитку від конідії до гіфи, ніж нецільові ліпосоми, AmB-LL. Відповідно, DEC2-AmB-LL інгібують та/або знищують *A. fumigatus* у 10-90 разів ефективніше *in vitro* [45].

Таким чином, грибові інфекції продовжують бути серйозною проблемою для громадського здоров'я і розробка нових методів лікування та профілактики є надзвичайно важливою. В цілому, дослідження в цих областях може допомогти розробити нові терапевтичні стратегії, які будуть більш ефективними та безпечними для лікування грибкових інфекцій, що становлять загрозу людства.

### ВИСНОВКИ

Зростання рівня резистентності до антифунгальних препаратів у грибів є серйозною загрозою для громадського здоров'я, оскільки це призводить до складнощів у лікуванні грибкових інфекцій. В результаті проведеного аналізу досліджень можна зробити наступні висновки:

1. Дослідження резистентності грибів до протигрибкових препаратів може відкрити нові шляхи для розробки ефективних стратегій лікування, які мають на меті подолати дану проблему.

2. Необхідно продовжувати дослідження боротьби з різними аспектами вірулентності грибів, зокрема, націлюватись на біоплівки, які є ключовими для їхньої патогенності. Розуміння механізмів стійкості біоплівок дозволяє розробляти нові стратегії лікування для подолання цієї проблеми.

3. Мітохондрії можуть стати потенційними цілями для нових протигрибкових засобів. Деякі природні продукти, такі як розмаринова кислота, берберин, екстракт насіння папайї, хілолціфенол А та калопанаксапонін А, мають протигрибкову активність за рахунок впливу саме на мітохондрії грибів.

4. Зосередження на різних метаболічних шляхах та ферментах в клітинах грибів відкриває можливості для розробки нових протигрибкових засобів, оскільки ці шляхи та ферменти є незамінними для росту та виживання грибів, а також для їхньої вірулентності.

5. Ферменти хітинсинтази є ключовими факторами в синтезі клітинної стінки грибків та можуть бути привабливими мішенями для розробки протигрибкових препаратів.

6. Профілактична вакцинація має можливість стати довгостроковим заходом для зменшення частоти інфекцій, пов'язаних із *Candida*.

7. Трансформаційні технології, відомі як DectiSomes дозволяють знизити ефективну дозу препарату, необхідну для боротьби з грибовою інфекцією, тим самим зменшуючи токсичний вплив на організм людини.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

## REFERENCES

1. Su H, Han L, Huang X. Potential targets for the development of new antifungal drugs. *J Antibiot (Tokyo)*. 2018 Nov;71(12):978-991. DOI: 10.1038/s41429-018-0100-9.
2. Meagher RB, Lewis ZA, Ambati S, Lin X. Aiming for a bull's-eye: Targeting antifungals to fungi with dectin-decorated liposomes. *PLoS Pathog*. 2021 Jul 22;17(7):e1009699. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009699.
3. Spampinato C, Leonardi D. *Candida* infections, causes, targets, and resistance mechanisms: traditional and alternative antifungal agents. *Biomed Res Int*. 2013;2013:204237. DOI: 10.1155/2013/204237.
4. Buil JB, Snelders E, Denardi LB, Melchers WJG, Verweij PE. Trends in Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus*, the Netherlands, 1994-2016. *Emerg Infect Dis*. 2019 Jan;25(1):176-178. DOI: 10.3201/eid2501.171925.
5. Mota Fernandes C, Dasilva D, Haranahalli K, McCarthy JB, Mallamo J, Ojima I, Del Poeta M. The Future of Antifungal Drug Therapy: Novel Compounds and Targets. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021 Jan 20;65(2):e01719-20. DOI: 10.1128/AAC.01719-20.
6. Bavaro DF, Balena F, Ronga L, Signorile F, Romanelli F, Stolfa S, Sparapano E, De Carlo C, Mosca A, Monno L, Angarano G, Saracino A. Emerging issue of fluconazole-resistant candidemia in a tertiary care hospital of southern Italy: time for antifungal stewardship program. *J Mycol Med*. 2022 Mar;32(1):101206. DOI: 10.1016/j.mycmed.2021.101206.
7. Hu S, Zhu F, Jiang W, Wang Y, Quan Y, Zhang G, Gu F, Yang Y. Retrospective Analysis of the Clinical Characteristics of *Candida auris* Infection Worldwide From 2009 to 2020. *Front Microbiol*. 2021 May 20;12:658329. DOI: 10.3389/fmicb.2021.658329.
8. Arastehfar, A.; Gabaldón, T.; Garcia-Rubio, R.; Jenks, J.D.; Hoenigl, M.; Salzer, H.J.F.; Ilkit, M.; Lass-Flörl, C.; Perlin, D.S. Drug-Resistant Fungi: An Emerging Challenge Threatening Our Limited Antifungal Armamentarium. *Antibiotics* 2020, 9, 877.
9. Curto MÁ, Butassi E, Ribas JC, Svetaz LA,

- Cortés JCG. Natural products targeting the synthesis of  $\beta(1,3)$ -D-glucan and chitin of the fungal cell wall. Existing drugs and recent findings. *Phytomedicine*. 2021 Jul 15;88:153556. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153556.
10. Ibe C, Munro CA. Fungal cell wall: An underexploited target for antifungal therapies. *PLoS Pathog*. 2021 Apr 22;17(4):e1009470. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009470.
  11. Larwood DJ. Nikkomycin Z-Ready to Meet the Promise? *J Fungi (Basel)*. 2020 Oct 30;6(4):261. DOI: 10.3390/jof6040261.
  12. Jallow S, Govender NP. Ibrexafungerp: A First-in-Class Oral Triterpenoid Glucan Synthase Inhibitor. *J Fungi (Basel)*. 2021 Feb 25;7(3):163. DOI: 10.3390/jof7030163.
  13. Mann PA, McLellan CA, Koseoglu S, Si Q, Kuzmin E, Flattery A, Harris G, Sher X, Murgolo N, Wang H, Devito K, de Pedro N, Genilloud O, Kahn JN, Jiang B, Costanzo M, Boone C, Garlisi CG, Lindquist S, Roemer T. Chemical Genomics-Based Antifungal Drug Discovery: Targeting Glycosylphosphatidylinositol (GPI) Precursor Biosynthesis. *ACS Infect Dis*. 2015 Jan 9;1(1):59-72. DOI: 10.1021/id5000212.
  14. Lv QZ, Yan L, Jiang YY. The synthesis, regulation, and functions of sterols in *Candida albicans*: Well-known but still lots to learn. *Virulence*. 2016 Aug 17;7(6):649-59. DOI: 10.1080/21505594.2016.1188236.
  15. Flowers SA, Colón B, Whaley SG, Schuler MA, Rogers PD. Contribution of clinically derived mutations in ERG11 to azole resistance in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Jan;59(1):450-60. DOI: 10.1128/AAC.03470-14.
  16. Prasath KG, Tharani H, Kumar MS, Pandian SK. Palmitic Acid Inhibits the Virulence Factors of *Candida tropicalis*: Biofilms, Cell Surface Hydrophobicity, Ergosterol Biosynthesis, and Enzymatic Activity. *Front Microbiol*. 2020 May 8;11:864. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00864.
  17. Li D, Calderone R. Exploiting mitochondria as targets for the development of new antifungals. *Virulence*. 2017 Feb 17;8(2):159-168. DOI: 10.1080/21505594.2016.1188235.
  18. Ivanov M, Kostic M, Stojkovic D, Sokovic M. Rosmarinic acid—Modes of antimicrobial and antibiofilm activities of common plant polyphenol. *S. Afr. J. Bot*. 2022, 146, 521–527.
  19. Tong Y, Zhang J, Sun N, Wang XM, Wei Q, Zhang Y, Huang R, Pu Y, Dai H, Ren B, Pei G, Song F, Zhu G, Wang X, Xia X, Chen X, Jiang L, Wang S, Ouyang L, Xie N, Zhang B, Jiang Y, Liu X, Calderone R, Bai F, Zhang L, Alterovitz G. Berberine reverses multidrug resistance in *Candida albicans* by hijacking the drug efflux pump Mdr1p. *Sci Bull (Beijing)*. 2021 Sep 30;66(18):1895-1905. DOI: 10.1016/j.scib.2020.12.035.
  20. Zhang T, Chen W. The *Candida albicans* Inhibitory Activity of the Extract from Papaya (*Carica papaya* L.) Seed Relates to Mitochondria Dysfunction. *Int J Mol Sci*. 2017 Aug 25;18(9):1858. DOI: 10.3390/ijms18091858.
  21. Zheng S, Chang W, Zhang M, Shi H, Lou H. Chiloscyphenol A derived from Chinese liverworts exerts fungicidal action by eliciting both mitochondrial dysfunction and plasma membrane destruction. *Sci Rep*. 2018 Jan 10;8(1):326. DOI:10.1038/s41598-017-18717-9.
  22. Li Y, Shan M, Zhu Y, Yao H, Li H, Gu B, Zhu Z. Kalopanaxsaponin A induces reactive oxygen species mediated mitochondrial dysfunction and cell membrane destruction in *Candida albicans*. *PLoS One*. 2020 Nov 30;15(11):e0243066. DOI: 10.1371/journal.pone.0243066.
  23. Yan T, An L, Chen F. Recombinant phage displaying ToAP2D peptide with antifungal activity against *Sporothrix globosa*. *Front Pharmacol*. 2022 Oct 7;13:1022651. DOI: 10.3389/fphar.2022.1022651.
  24. Holmes AR, Cardno TS, Strouse JJ, Ivnitski-Steele I, Keniya MV, Lackovic K, Monk BC, Sklar LA, Cannon RD. Targeting efflux pumps to overcome antifungal drug resistance. *Future Med Chem*. 2016 Aug;8(12):1485-501. DOI: 10.4155/fmc-2016-0050. Epub 2016 Jul 27.
  25. Shao J, Zhang M, Wang T, Li Y, Wang C. The roles of CDR1, CDR2, and MDR1 in kaempferol-induced suppression with fluconazole-resistant *Candida albicans*. *Pharm Biol*. 2016;54(6):984-92. DOI: 10.3109/13880209.2015.1091483.
  26. Staniszevska M, Kuryk Ł, Gryciuk A, Kawalec J, Rogalska M, Baran J, Łukowska-Chojnacka E,

- Kowalkowska A. In Vitro Anti-Candida Activity and Action Mode of Benzoxazole Derivatives. *Molecules*. 2021 Aug 18;26(16):5008. DOI: 10.3390/molecules26165008.
27. Wijnants S, Vreys J, Van Dijck P. Interesting antifungal drug targets in the central metabolism of *Candida albicans*. *Trends Pharmacol Sci*. 2022 Jan;43(1):69-79. DOI: 10.1016/j.tips.2021.10.003.
  28. Ivanov M, Ćirić A, Stojković D. Emerging Antifungal Targets and Strategies. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 2;23(5):2756. DOI: 10.3390/ijms23052756.
  29. Dell'Olmo E, Gaglione R, Cesaro A, Cafaro V, Teertstra WR, de Cock H, Notomista E, Haagsman HP, Veldhuizen EJA, Arciello A. Host defence peptides identified in human apolipoprotein B as promising antifungal agents. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021 Mar;105(5):1953-1964. DOI: 10.1007/s00253-021-11114-3.
  30. Güzel-Akdemir Ö, Carradori S, Grande R, Demir-Yazıcı K, Angeli A, Supuran CT, Akdemir A. Development of Thiazolidinones as Fungal Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2020 Apr 22;21(8):2960. DOI: 10.3390/ijms21082960.
  31. Kuplińska A, Rząd K. Molecular targets for antifungals in amino acid and protein biosynthetic pathways. *Amino Acids*. 2021 Jul;53(7):961-991. DOI: 10.1007/s00726-021-03007-6.
  32. Kernien JF, Snarr BD, Sheppard DC, Nett JE. The Interface between Fungal Biofilms and Innate Immunity. *Front Immunol*. 2018 Jan 10;8:1968. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01968..
  33. Li Z, Nielsen K. Morphology Changes in Human Fungal Pathogens upon Interaction with the Host. *J Fungi (Basel)*. 2017;3(4):66. DOI: 10.3390/jof3040066.
  34. Bar-Yosef H, Vivanco Gonzalez N, Ben-Aroya S, Kron SJ, Kornitzer D. Chemical inhibitors of *Candida albicans* hyphal morphogenesis target endocytosis. *Sci Rep*. 2017 Jul 18;7(1):5692. DOI: 10.1038/s41598-017-05741-y.
  35. Feldman M, Sionov RV, Mechoulam R, Steinberg D. Anti-Biofilm Activity of Cannabidiol against *Candida albicans*. *Microorganisms*. 2021 Feb 20;9(2):441. DOI: 10.3390/microorganisms9020441.
  36. Ivanov M, Gašić U, Stojković D, Kostić M, Mišić D, Soković M. New Evidence for *Artemisia absinthium* L. Application in Gastrointestinal Ailments: Ethnopharmacology, Antimicrobial Capacity, Cytotoxicity, and Phenolic Profile. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021 Jul 22;2021:9961089. DOI: 10.1155/2021/9961089.
  37. Ivanov M, Kannan A, Stojković DS, Glamoclija J, Calhella RC, Ferreira ICFR, Sanglard D, Soković M. Camphor and Eucalyptol-Anticandidal Spectrum, Antivirulence Effect, Efflux Pumps Interference and Cytotoxicity. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 6;22(2):483. DOI: 10.3390/ijms22020483.
  38. Yan Y, Tan F, Miao H, Wang H, Cao Y. Effect of Shikonin Against *Candida albicans* Biofilms. *Front Microbiol*. 2019 May 14;10:1085. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01085.
  39. Szerencsés B, Gácsér A, Endre G, Domonkos I, Tiricz H, Vágvölgyi C, Szolomajer J, Howan DHO, Tóth GK, Pfeiffer I, Kondorosi É. Symbiotic NCR Peptide Fragments Affect the Viability, Morphology and Biofilm Formation of *Candida* Species. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 1;22(7):3666. DOI: 10.3390/ijms22073666.
  40. Folly MLC, Ferreira GF, Salvador MR, Sathler AA, da Silva GF, Santos JCB, Dos Santos JRA, Nunes Neto WR, Rodrigues JFS, Fernandes ES, da Silva LCN, de Freitas GJC, Denadai ÂM, Rodrigues IV, Mendonça LM, Monteiro AS, Santos DA, Cabrera GM, Siless G, Lang KL. Evaluation of in vitro Antifungal Activity of *Xylosma prockia* (Turcz.) Turcz. (Salicaceae) Leaves Against *Cryptococcus* spp. *Front Microbiol*. 2020 Feb 6;10:3114. DOI: 10.3389/fmicb.2019.03114.
  41. Tso GHW, Reales-Calderon JA, Pavelka N. The Elusive Anti-Candida Vaccine: Lessons From the Past and Opportunities for the Future. *Front Immunol*. 2018 Apr 27;9:897. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00897.
  42. Ambati S, Ellis EC, Pham T, Lewis ZA, Lin X, Meagher RB. Antifungal Liposomes Directed by Dectin-2 Offer a Promising Therapeutic

- Option for Pulmonary Aspergillosis. *mBio*. 2021 Feb 23;12(1):e00030-21. DOI: 10.1128/mBio.00030-21.
43. Ambati S, Ferarro AR, Kang SE, Lin J, Lin X, Momany M, Lewis ZA, Meagher RB. Erratum for Ambati et al., "Dectin-1-Targeted Antifungal Liposomes Exhibit Enhanced Efficacy". *mSphere*. 2019 Mar 6;4(2):e00121-19. DOI: 10.1128/mSphere.00121-19.
44. Ambati S, Ellis EC, Lin J, Lin X, Lewis ZA, Meagher RB. Dectin-2-Targeted Antifungal Liposomes Exhibit Enhanced Efficacy. *mSphere*. 2019 Oct 30;4(5):e00715-19. DOI: 10.1128/mSphere.00715-19.
45. Ambati S, Ferarro AR, Kang SE, Lin J, Lin X, Momany M, Lewis ZA, Meagher RB. Dectin-1-Targeted Antifungal Liposomes Exhibit Enhanced Efficacy. *mSphere*. 2019 Feb 13;4(1):e00025-19. DOI: 10.1128/mSphere.00025-19.

## NEW STRATEGIES IN COMBATING FUNGAL PATHOGENS

*Hrynzovska A.A., Bobyr V.V.*

*Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine*

*hrynzovska@nmu.ua*

**Background.** The relevance of the research is driven by the emerging trend of increasing resistance to existing drugs for the treatment of fungal infections. Addressing this issue is only possible by developing new formulations of antifungal agents or improving existing ones; studying the mechanisms of interaction of drugs with fungal cell walls and their exopolysaccharide matrices; refining delivery methods of antifungal agents, such as DectiSomes, for maximum effectiveness and minimizing side effects; expanding understanding of the immune response mechanisms to fungal infections and developing vaccines for the prevention of these diseases. The research aims to improve methods of diagnosis, treatment, and prevention of fungal infections to enhance the quality of life for patients and reduce the overall impact of these diseases on public health.

**Aim:** To evaluate new treatment strategies for fungal infections to increase the effectiveness of antifungal agents, reduce their toxicity, and slow down the development of resistance.

**Materials and Methods:** The materials for this study included publications of results from contemporary scientific research on the topic. The methods used for conducting the research were: a systematic approach and analysis, literary and critical analysis.

**Results.** Prove the prospects for developing new strategies and techniques for antifungal therapy. By analyzing the results of clinical studies, including the assessment of the effectiveness of various antifungal drugs, it is possible to determine which ones are most effective under certain conditions and for specific types of fungal infections. New methodologies based on the principle of delivering or acting directly on the target area allow reducing the overall burden on the body. Better penetration of drugs into the skin and tissues allows for better control of fungal infection and accelerated healing process. Evaluating side reactions and patient tolerance levels to different drugs helps select antifungal agents that are the safest and most comfortable to use.

**Conclusion.** Fungal infections continue to be a serious public health problem, and the development of new treatment and prevention methods is extremely important. Overall, research in these areas can help develop new therapeutic strategies that are more effective and safer for treating fungal infections, which pose a threat to humanity.

**Key words:** fungal infections, antifungal agents, resistance, diagnostic methods, treatment, public health.