

## CÁC CHIẾN LƯỢC MỚI ĐỐI PHÓ VỚI NẤM KHÁNG THUỐC

*Nguồn: An insight into new strategies to combat antifungal drug resistance, Drug Design, Development and Therapy 2018:12*

Tác giả: Yan-Hua-Zheng, Yue-Yun-Ma, Yi-Ding, Xie-Qun-Chen, Guang-Xun Gao  
Lược dịch: Lương Quang Anh, Nguyễn Thái Ngọc Minh

### TÓM TẮT

Nhiễm nấm xâm lấn, đặc biệt ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch là một nguyên nhân tử vong chủ yếu. Các thuốc chống nấm thường được sử dụng nhất có thể được chia thành ba nhóm, bao gồm triazoles, echinocandin và polyenes. Đề kháng kháng thuốc, kháng nấm ngày càng gia tăng, đặt ra một mối đe dọa ngày càng tăng đối với sự quản lý của bệnh nhân suy giảm miễn dịch với nhiễm nấm. Sự thiếu hụt các loại thuốc chống nấm hiện có dẫn đến sự xuất hiện nhanh chóng của kháng thuốc và làm tình trạng nhiễm nấm xâm lấn càng thêm dai dẳng.

Do vậy, việc tìm hiểu kỹ về các cơ chế kháng thuốc và tìm kiếm các mục tiêu chống nấm mới là rất cần thiết. Bài báo này nhấn mạnh các chiến lược điều trị nhằm mục tiêu sinh tổng hợp Hsp90, calcineurin, sinh tổng hợp trehalose và sinh tổng hợp spakenolipids, cung cấp bằng chứng lâm sàng khắc phục tình trạng kháng thuốc và hình thành cơ sở cho liệu pháp phối hợp thuốc chống nấm thông thường và tác nhân với cơ chế hoạt động mới. Hơn nữa, bài báo này cũng giới thiệu ngắn gọn về ba loại thuốc chống nấm mới, bao gồm carboxymethyl chitosan, hạt nano bạc và chromogranin A-N46.

### GIỚI THIỆU

Các mầm bệnh nấm gây nhiễm trùng đe dọa tính mạng ở những người bị suy giảm miễn dịch, bao gồm cả những người trải qua hóa trị liệu liều cao hoặc xạ trị cho bệnh ác tính ung thư, những người dùng thuốc ức chế miễn dịch điều trị các bệnh tự miễn, ghép tế bào gốc hoặc ghép tế bào gốc tạo máu và những người bị nhiễm AIDS.

Nấm nói chung là mầm bệnh cơ hội, ba loài phổ biến nhất là *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* và *Aspergillus fumigatus*. Lựa chọn phương pháp trị liệu đối với nhiễm nấm xâm lấn được giới hạn ở ba nhóm chính có khác biệt về cấu trúc

của các hợp chất, đó là polyenes, triazoles và echinocandin. Hầu hết các loại thuốc chống nấm hoạt động tốt bằng cách nhắm mục tiêu sterol ergosterol của màng tế bào nấm hoặc thành tế bào phân tử liên kết (1,3)- $\beta$ -D-glucan, hoặc bằng cách cản trở sinh tổng hợp của chúng.

Azoles là thuốc chống nấm được sử dụng rộng rãi nhất, bao gồm fluconazole, voriconazole và posaconazole. Azoles hoạt động bằng cách ức chế lanosterol demethylase, một loại enzyme liên quan đến sinh tổng hợp ergosterol.

Lanosterol demethylase được mã hóa bởi ERG11 ở *C. albicans* và *C. neoformans*,

và bởi CYP51A và CYP51B ở *A. fumigatus*. Azoles cũng gây ra sự tích tụ của một chất trung gian sterol độc hại được gọi là 14 $\alpha$ -methylergosta-8,24 (28)-dien-6 $\beta$ , 3 $\alpha$ -diol, được tạo ra bởi Erg3. Kết quả này là do sự cạn kiệt của ergosterol, phá hủy tính toàn vẹn của màng tế bào nấm. Echinocandin bao gồm caspofungin, micafungin và anidulafungin. Echinocandin phát huy toàn bộ tác dụng diệt nấm đối với *Candida* spp. và tác dụng chống nấm đối với *Aspergillus* spp. bằng cách ức chế (1,3)- $\beta$ -D-glucan synthase, được mã hóa bởi FKS1 trong *C. albicans* và *A. fumigatus*, và bởi FKS1 và FKS2 ở *Candida glabrata* và *saccharomyces cerevisiae*. (1,3)- $\beta$ -D-glucan, một cấu trúc polysaccharit, là thành phần chính của thành tế bào nấm, và ức chế tổng hợp của nó dẫn đến sự suy yếu của vách tế bào nấm. Tuy nhiên, echinocandin không có tiềm năng để chống lại *Cryptococcus* spp.

Polyen bao gồm amphotericin B (AmB) và nystatin, có phổ rộng hoạt động chống lại các loài *Candida*, *Cryptococcus* và *Aspergillus*. Ngoài tác dụng ức chế protein vận chuyển màng, amphipathic các phân tử cũng gắn vào sterol ergosterol trên màng tế bào nấm, hình thành phức hợp thuốc-lipid xen kẽ vào màng tế bào nấm và sau đó khoan lỗ vào trong màng tế bào. Rò rỉ các ion nội bào sẽ phá hủy gradient proton, do đó dẫn đến ly giải tế bào thẩm thấu.

Hiện nay, các lựa chọn điều trị hạn chế cho xâm lấn nhiễm nấm dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh. Ngoài ra, tiếp xúc với thuốc chống nấm trong các trường hợp sử dụng dự phòng và điều trị lặp đi lặp lại hoặc kéo dài có mối tương quan chặt chẽ với sự xuất hiện ngày càng tăng của kháng thuốc,

do đó làm tăng nặng thêm tình trạng của bệnh nhân và tỷ lệ tử vong. Hơn nữa, các cơ chế tạo ra tính kháng nấm bao gồm sự hình thành biofilm, sự phát triển bất thường của vi khuẩn, thay đổi bộ gen và biểu hiện quá mức của bơm đẩy ngược thuốc (bao gồm siêu họ của các dạng vận chuyển và vận chuyển ghi nhớ gắn ATP). Với sự xuất hiện đề kháng với các thuốc chống nấm thường được sử dụng trong số mầm bệnh cơ hội, bắt buộc phải có những cách tiếp cận hiệu quả hơn để loại bỏ mối đe dọa đáng báo động này. Hiểu biết về cơ chế kháng thuốc góp phần tìm kiếm mục tiêu mới và phát triển thuốc chống nấm mới có phương pháp trị liệu tốt hơn. Bài báo này tập trung vào một số mục tiêu tiềm năng để chống lại sự kháng thuốc của nấm.

### Protein sốc nhiệt hướng đích

Protein sốc nhiệt (Hsps) hoạt động như chaperon phân tử, chịu trách nhiệm gấp và duy trì cấu tạo thích hợp của protein khách. Hsp90 là một chaperon phân tử được bảo tồn ở mức độ cao trong sinh vật nhân chuẩn (eukaryote) có tác dụng điều chỉnh sự ổn định và kích hoạt của các protein khách khác nhau, hầu hết đóng một vai trò quan trọng trong việc điều hòa sự tải nạp tín hiệu ở mức độ tế bào. Trong nhiễm nấm, Hsp90 thể hiện rõ các yếu tố trên mạch phản ứng tế bào thông qua sự tương tác của nó với vô số các bộ điều chỉnh tế bào. Hsp90 bao gồm ba miền chức năng. Một miền N-terminal bao gồm một túi gắn kết ATP. Một miền giữa ổn định protein khách và thúc đẩy liên kết ATP và thủy phân ATP, thông qua đó năng lượng được cung cấp cho chức năng Hsp90. Một miền

C-terminal chứa vị trí liên kết nucleotid khác và quy định giảm thiểu Hsp90. Chức năng của Hsp90 có thể được điều chỉnh bởi nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm liên kết và thủy phân ATP, tương tác với đồng phân tử protein hỗ trợ của các cơ chế khác và sửa đổi hậu dịch chuyển như phosphoryl hóa, methyl hóa, acetyl hóa...

Như đã thảo luận ở trên, azole gây ra hoạt động chống nấm bằng cách ức chế lanosterol demethylase, do đó cản trở tổng hợp ergosterol. Trong khi đó, tích lũy chất độc sterol trung gian được tạo ra bởi Erg3 có thể dẫn đến tổn thương nghiêm trọng màng tế bào. Echinocandin gây gián đoạn tính toàn vẹn và sức căng của thành tế bào bằng cách ức chế tổng hợp (1,3)-D-glucan. Sự suy giảm chức năng Hsp90 cũng làm mất đề kháng azole hoặc echinocandin gây ra bởi một loạt các đột biến, bao gồm cả sự kháng thuốc tiến triển trên bệnh nhân được điều trị bằng azole hoặc echinocandin. Sự dung nạp của hai chủng *C. albicans* trong phòng thí nghiệm (SC5314 và SN95) đối với micafungin đã bị giảm đi do ức chế dược lý của Hsp90 với geldanamycin và sự hòa hợp di truyền của biểu hiện Hsp90 thông qua chất kích thích tự nhiên thay thế bằng chất xúc tác tetO. Ức chế dược lý của Hsp90 với geldanamycin làm giảm sức đề kháng caspofungin của *A. fumigatus* phân lập trên lâm sàng. Ức chế Hsp90 cũng làm giảm đề kháng với caspofungin của các chủng *C. glabrata* phân lập trên lâm sàng. Sử dụng kết hợp thuốc ức chế Hsp90 và echinocandin có tác dụng diệt nấm chống lại các chủng *A. fumigatus* kháng azole. Sự ức chế Hsp90 với geldanamycin làm giảm đáng kể

sự tăng trưởng và tăng sinh của tất cả các chủng phân lập lâm sàng khi tiếp xúc với fluconazole, cho thấy rằng kháng azole bị hủy bỏ bằng cách ức chế Hsp90.

### Sự điều chỉnh ngược dòng

Tương tác với các đồng phân tử protein hỗ trợ và sửa đổi hậu biến đóng vai trò điều tiết ngược dòng để điều chỉnh kháng thuốc, thay đổi cấu trúc Hsp90 và trong chức năng nhận dạng protein khách và chức năng đi kèm. Shapiro và cộng sự cho rằng chức năng của SGT1 như là một Hsp90 các đồng phân tử protein hỗ trợ trong *C. albicans*, tương tác vật lý với Hsp90 và tăng khả năng chịu đựng, chống lại các azole và echinocandin. Trong khi đó, sự cạn kiệt của Sgt1 cũng hủy bỏ sự dung nạp cơ bản và có được sự đề kháng với hai loại thuốc chống nấm này, kích hoạt tín hiệu PKA, ức chế hoạt hóa calcineurin và làm giảm độc lực bằng cách gây ra sự phát tán của *C. albicans*. Trong *C. albicans*, tính ổn định và chức năng của protein khách Hsp90 có thể bị phá hủy bằng cách xóa bỏ tiểu đơn vị điều hòa của phức hợp protein kinase CK2, do đó làm tê liệt kháng azole.

Sự ức chế lysine deacetylase (KDAC) với trichostatin A phá hủy sự ổn định và chức năng của vô số protein khách Hsp90 và hủy bỏ tính kháng với azole trong *C. albicans* và *S. cerevisiae*. Các KDAC quan trọng đối với tình trạng kháng thuốc ở *S. cerevisiae* là Hda1 và Rpd3, trong khi các KDAC ở *C. albicans* vẫn còn là một bí ẩn. Mặc dù bảo toàn được Hsp90, vẫn tồn tại sự khác biệt lớn giữa các KDAC giữa nấm và người, do đó

nhằm mục tiêu vào các KDAC là một chiến lược đầy hứa hẹn để ức chế nấm mà không gây ra độc tính cho vật chủ.

### Hiệu quả đáp ứng

Hsp90 điều chỉnh kháng thuốc và độc lực thông qua các tác nhân khác nhau hoặc protein khách như calcineurin, tiểu đơn vị xúc tác tương tác vật lý với Hsp90 trong *C. albicans*. Hsp90 ổn định tiểu đơn vị xúc tác của calcineurin, do đó sự cạn kiệt Hsp90 dẫn đến giảm calcineurin. Cyclosporin A và tacrolimus, thuốc ức chế miễn dịch được sử dụng rộng rãi trong lâm sàng. Để phát triển các chất tương tự ức chế calcineurin duy trì tác dụng kháng nấm mà không có hoạt động ức chế miễn dịch ở người, hứa hẹn sẽ loại bỏ tình trạng kháng thuốc. Trong khi đó, Hsp90 điều chỉnh tính kháng đối với cả azole và echinocandin thông qua con đường Mkc1. Sự suy giảm của Hsp90 dẫn đến sự phá vỡ Mkc1, do đó ngăn chặn các đáp ứng có tác dụng làm cho nấm vẫn tồn tại được mặc dù đã sử dụng các thuốc chống nấm.

### Sự hình thành màng biofilm

Màng biofilm được thiết lập là hình thức phát triển chính của nấm trong tự nhiên. Sự hình thành biofilm là một yếu tố quan trọng khác làm giảm hiệu quả của liệu pháp chống nấm. Biofilm là một cộng đồng nấm có cấu trúc, được gắn vào bề mặt của một số vật thể và được gói gọn trong ma trận ngoại bào để tạo và che chắn nấm gây bệnh chống lại các tác nhân chống nấm. Một loạt các vật liệu sinh học được sử dụng trong lâm sàng, đặc biệt là catheter, tạo điều kiện cho nấm

và biofilm hình thành. *Candida* spp. là những loại nấm được phát hiện thường xuyên nhất trên các vật liệu sinh học. Ở *C. albicans*, ức chế chức năng Hsp90 trong ống nghiệm không chỉ làm giảm sự hình thành biofilm mà còn loại bỏ tình trạng kháng azole, duy trì sự phổ biến của các tế bào biofilm có thể là nguồn lây nhiễm mới được tìm thấy.

Ở *A. fumigatus*, cản trở Hsp90 cũng làm giảm sức đề kháng echinocandin của biofilms trong ống nghiệm. Trong một mô hình nghiên cứu trên chuột bị nhiễm khuẩn có biofilm ở catheter trung tâm, azole được sử dụng như một tác nhân duy nhất cho thấy không có hiệu quả, trong khi hiệu quả mạnh mẽ với ít độc tính của vật chủ đã đạt được sau khi điều trị kết hợp các azole liên quan đến sự thỏa hiệp di truyền hoặc dược lý của chức năng Hsp90. Một trường hợp điển hình là sau khi biofilm được hình thành, catheter trên chuột đã được khử trùng bằng cách sử dụng đồng thời 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin, để ức chế dược lý của Hsp90 và fluconazole.

### Sự phát triển bất thường của vi nấm

Hsp90 thể hiện ảnh hưởng sâu sắc đến khả năng chuyển đổi giữa dạng nấm men và dạng nấm hoặc dạng nấm sợi trong *C. albicans*. Nó được thừa nhận rằng các chất kích thích đóng vai trò quan trọng trong sự xâm lấn mô, biểu hiện các yếu tố độc lực như chất kết dính và sự xâm lấn của đại thực bào, tất cả đều dẫn đến nhiễm trùng nặng, trong khi nấm men có liên quan đến nhiễm trùng sớm và nhiễm trùng cơ hội. Sự suy giảm chức năng Hsp90 gây ra

quá trình chuyển đổi từ nấm men sang nấm sợi trong các trường hợp khác nhau, bao gồm tiếp xúc với huyết thanh, thiếu hụt chất dinh dưỡng, tăng carbon dioxide và nhiệt độ cao thông qua các mạch mới bao gồm kinase phụ thuộc cyclin Pho85, cyclin Pcl1 và điều hòa phiên mã Hms1.

### Protein sốc nhiệt khác

Mayer và cộng sự đã chứng minh rằng Hsp21 tăng cường khả năng chịu đựng và kháng thuốc đối với các loại thuốc chống nấm thường được sử dụng trong *C. albicans* và cho rằng Hsp21 hoạt động theo cùng một con đường với Hsp90. Sự suy giảm của Hsp21 dẫn đến sự nhạy cảm ở mức độ vừa phải đối với AmB. Một đột biến khiếm khuyết Hsp21- bị ức chế bởi caspofungin, cho thấy các chất chống Hsp21 có thể được sử dụng kết hợp với các thuốc chống nấm thông thường khác. Trong khi đó, việc xóa bỏ Hsp21 làm cho *C. albicans* nhạy cảm một phần với tacrolimus. Hsp21 cũng được tìm thấy trong các mầm bệnh nấm khác như *Candida dubliniensis*, *Candida* nhiệt đới và *Candida parapsilosis*, nhưng không được tìm thấy ở người. Trên hết, thuốc chống Hsp21 sẽ đáp ứng các yêu cầu của một hợp chất chống độc mới, tiêu diệt một số loại tế bào nấm gây bệnh với ít tác dụng phụ cho bệnh nhân. Gần đây, Hsp70, một đồng phân tử hỗ trợ, đã được chứng minh đóng vai trò chính trong việc điều phối đáp ứng với caspofungin thông qua Hsp90 và đồng chaperon StiA trên *A. fumigatus*. Ức chế dược lý của Hsp70 với pifithrin- $\mu$  hoặc xóa gen của StiA dẫn đến suy giảm chức năng Hsp90 và tăng tính nhạy cảm với

caspofungin, cho thấy rằng việc nhắm mục tiêu phức hợp Hsp70 - StspAi - Hsp90 hoặc ức chế Hsp70 sẽ giúp tăng cường khả năng chống nấm chống lại *A. fumigatus*.

### Calcineurin hướng đích

Calcineurin, một  $Ca^{2+}$  -calmodulin (CaM) - protein hoạt hóa phosphatase 2B, chiếm phần quan trọng trong tín hiệu phụ thuộc canxi trong các loại nấm khác nhau. Nó bao gồm một tiểu đơn vị xúc tác (CnA) và một tiểu đơn vị điều tiết (CnB). Nó là một dị vòng với CnA chứa đầu cuối N miền phosphatase và chuỗi xoắn liên kết CnB cùng với miền gắn kết CaM. Có một miền tự động ức chế trong đó ức chế hoạt động xúc tác tại điểm cuối C. Các hoạt động của calcineurin phosphatase được tăng cường nhờ tuân thủ của  $Ca^{2+}$  -CaM thành CnA và CnB, tạo thành phức chất kích hoạt (can- CnBT- CaM) qua đó tín hiệu  $Ca^{2+}$  + được truyền đi để khử phospho hóa yếu tố phiên mã Crz1 và tạo điều kiện cho Crz1 chuyển thành hạt nhân. Crz1, một loại nấm tương đồng của động vật có vú, hoạt động bằng cách kích hoạt phiên mã các gen liên quan đến tăng trưởng, độc lực, tính toàn vẹn của thành tế bào và kháng thuốc. Hoạt tính của calcineurin có thể bị ức chế bởi sự ràng buộc của nó với immunophilin phức hợp ức chế miễn dịch, như FKB506 FKBP12 trong tacrolimus và CsATHER CypA trong cyclosporine A.

Calcineurin rất quan trọng đối với sự tăng trưởng, độc lực, kháng thuốc, phản ứng của cơ thể và chuyển đổi giữa các trạng thái hình thái đối với phổ rộng của nấm, bao gồm *C. albicans*, *A. fumigatus*, *C. neoformans*, v.v. Kết hợp tacrolimus

(thuốc ức chế miễn dịch chống thải ghép) và caspofungin cũng có tác dụng hiệp đồng chống lại chủng *C. dubliniensis* với kháng echinocandin. Trong *C. albicans*, sự kết hợp của fluconazole và tacrolimus có thể đảo ngược một phần khángazole. Kết hợp cyclosporineA với các thuốc chống nấm khác cũng cho thấy tác dụng hiệp đồng chống lại *Candida* spp. Tác dụng tăng cường bởi ứng dụng kết hợp thuốc ức chế calcineurin và các thuốc chống nấm khác trong ống nghiệm hoặc trong các mô hình thí nghiệm bệnh mucocycosis gây ra bởi *Mucor* và *Rhizopus* spp.

Một chiến lược kháng nấm mạnh để nhắm mục tiêu vào các tác nhân hoặc đáp ứng trong con đường truyền tín hiệu calcineurin thông qua các biến đổi di truyền và sinh hóa. Crz1 điều chỉnh phản ứng sao chép gây ra bởi hoạt hóa calcineurin với phản ứng cơ thể. Cbp1, một yếu tố chịu trách nhiệm cho sự tăng trưởng của hyphal, cân bằng nội môi canxi và điều hòa tín hiệu calcineurin, đã được xác định ở *C. neoformans* và *A. fumigatus*

### Con đường sinh tổng hợp trehalose hướng đích

Trehalose, còn được gọi là  $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1,1)- $\alpha$ -D-glucopyranoside, là một disacarit không khử đơn giản chứa hai tiểu đơn vị glucose được kết nối bởi một  $\alpha$ ,  $\alpha$ -1,1-liên kết glycosid. Con đường Trehalose liên quan trực tiếp với sự thủy phân glucose. Sản xuất một số enzyme quan trọng đóng vai trò then chốt trong sự hình thành trehalose, bao gồm trehalose-6-phosphate synthase (Tps1) và trehalose-6-

phosphate phosphatase (Tps2), cũng được điều chỉnh bởi con đường tổng hợp trehalose.

Trehalose có thể được sản xuất bởi vi khuẩn, nấm, thực vật và động vật không xương sống, trong khi nó không thể được tạo ra bởi vật chủ như động vật có vú vì không có hệ thống enzyme cho con đường trehalose trong động vật có vú. Sự phong tỏa con đường trehalose thông qua ức chế enzyme có thể gây ra hậu quả bất lợi nhỏ trên trao đổi chất của con người và hệ thống sinh hóa. Các chất ức chế định hướng con đường sinh tổng hợp trehalose là một mục tiêu tiềm năng để chống lại tình trạng nhiễm nấm. Trehalose được coi là một nguồn carbon thay thế quan trọng, cung cấp năng lượng cho một số loại nấm. Trehalose-6-phosphate (T6P), một loại trung gian trehalose, rất quan trọng đối với sự điều hòa chuyển hóa carbon, đóng vai trò là một phân tử tín hiệu chính trong tế bào nấm. Trong nấm, glycogen có chức năng khi chất dinh dưỡng rất phong phú. Tuy nhiên, với sự cạn kiệt glucose, trehalose bắt đầu tích lũy dần dần và phục vụ như một nguồn năng lượng thay thế đặc biệt là phản ứng cơ thể và điều kiện cực đói. Trehalose có thể hình thành liên kết hydro bằng cách kết nối hai phân tử nước và do đó hoạt động như một sự thay thế nước bằng cách tương tác với phospholipid hoặc các đại phân tử khác trên màng tế bào để che chắn cho nấm gây bệnh chống lại phản ứng cơ thể. Hơn nữa, trehalose cũng có thể bảo vệ màng tế bào nấm chống lại tình trạng mất nước bằng cách tạo ra trạng thái thủy tinh trong trường hợp không giữ nước hoặc kết tinh.

Các gốc tự do chứa oxy (ROS) rất quan trọng đối với hệ thống miễn dịch để chống lại nấm gây bệnh. Khi phải đối mặt với các điều kiện stress oxy hóa, trehalose hoạt động như một chất loại bỏ gốc tự do để diệt trừ ROS. Ức chế sinh tổng hợp trehalose *in vivo* có thể làm tăng tác dụng bảo vệ miễn dịch của vật chủ phụ thuộc ROS chống lại nấm, bằng chứng là sự nhạy cảm tăng cường rõ rệt của *S. cerevisiae* bị đột biến do trehalose hydro peroxide ( $H_2O_2$ ) so với chủng loại ở môi trường tự nhiên. Sau khi tiếp xúc với các yếu tố stress oxy hóa, sự giảm khả năng sống sót và kết quả sống sót kém cũng đã được quan sát thấy ở *C. albicans*, *C. neoformans* và *A. fumigatus*. Một loạt các loại nấm đột biến trehalose bao gồm *C. albicans*, *C. neoformans* và *Aspergillus nidulans* nhạy cảm hơn với sốc nhiệt, được cho rằng đã giảm khả năng sống sót cả trong điều kiện lạnh và nóng. Mặc dù không có bằng chứng mạnh mẽ với thực tế là trehalose tạo thành một phần không thể thiếu trong thành phần cấu trúc của thành tế bào nấm, sự thiếu hụt của Tps2 trong *C. albicans*, *A. nidulans* và *A. fumigatus* làm suy yếu cân bằng nội môi tế bào và độc lực bằng cách giảm chitin và dẫn đến ly giải tế bào ở nhiệt độ cao hoặc thấp. Trong *S. cerevisiae*, Tps3p được phát hiện có vai trò điều tiết trong Tps phức tạp, đặc biệt là trong sốc nhiệt. Phosphorylated Tps3p cũng điều chỉnh hoạt động của Tps2. Ở *C. albicans*, một yếu tố phiên mã được gọi là Cap1p được liên kết chặt chẽ với khả năng chịu đựng áp lực oxy hóa và mạng lưới ràng buộc cho Cap1p nằm trong vùng hoạt hóa Tps3. Tiếp xúc với  $H_2O_2$  cho kết quả tăng cao đáng kể ở

Tps3 mRNA. Sau khi làm sáng tỏ ý nghĩa của sự tổng hợp trehalose trong sự tồn tại và thích nghi của nấm đối với các stress khác nhau, một kết luận được đưa ra rằng Tps1, Tps2 và tiểu đơn vị điều tiết Tps3p của chúng có khả năng là mục tiêu kháng nấm lý tưởng.

Guirao-Abad và cộng sự đã xác định rằng validamycin A sẽ là chất cơ bản đầy hứa hẹn để tạo ra các hợp chất chống nấm mới nhắm vào con đường trehalose trong tương lai, mặc dù validamycin A không còn được sử dụng trong lâm sàng. Magalhães và cộng sự đã khẳng định rằng trong tương lai T6P ức chế hoạt tính Tps1 ở *S. cerevisiae*, *C. albicans* và *C. tropicalis*, cho thấy rằng T6P có thể là một chất kháng nấm đầy hứa hẹn chống lại mầm bệnh mà độc lực phụ thuộc vào trehalose. Tuy nhiên, là một phân tử phosphoryl hóa, T6P, được đặc trưng bởi tính thấm màng tế bào kém. Vì vậy, việc kiểm soát và chiến lược phân phối thuốc phải được nghiên cứu để cải thiện tính thấm của tế bào.

### Sphingolipids hướng đích

Sphingolipids là thành phần quan trọng của màng tế bào nấm. Một số loại spakenolipids như inositolphosphoryl ceramide (IPC) và glucosylceramide (GlcCer), đóng vai trò quan trọng trong sinh bệnh học và độc lực của nấm. Cho đến nay, các nghiên cứu về vai trò của IPC trong độc lực chủ yếu bị giới hạn ở mô hình *S. cerevisiae* không có độc lực. Dòng *C. neoformans* thiếu gen GlcCer synthase (Gcs1) không những đã mất độc lực trong mô hình động vật nhưng cũng không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố độc lực khác,

chẳng hạn như viên nang và melanin. GlcCer có thể tạo điều kiện cho nấm chống chọi được với điều kiện kiềm được chứng minh bằng việc làm chậm phát triển trong môi trường pH kiềm/trung tính do xóa bỏ gen GlcCer synthase trong *C. neoformans*. Đây cũng là trường hợp thiếu *C. neoformans* đột biến sphingolipid methyltransferase 1 (Smt1), dẫn đến GlcCer không được methyl hóa. Ở *C. albicans*, làm gián đoạn gen mã hóa các enzyme liên quan đến con đường sinh tổng hợp GlcCer, chẳng hạn như Smt1 và Gcs1, dẫn đến giảm tế bào kéo dài trong môi trường rắn tạo sợi nấm. Loại bỏ gen Gcs1 trong *C. albicans* dẫn đến sự không hoàn chỉnh của cấu trúc màng tế bào và tăng cường tính nhạy cảm đối với điều trị fluconazole.

FEN1 và SUR4 là con đường sinh tổng hợp sphingolipid gen mã hóa elongase axit béo. Sharma và cộng sự đã chứng minh rằng việc xóa bỏ FEN1 và SUR4 ở *S. cerevisiae* và điều chỉnh chúng trong *C. albicans* đã tăng cường đáng kể độ nhạy cảm với AmB so với các dòng nấm phổ biến. Điều này có thể được giải thích bởi thực tế là sự cạn kiệt của spakenolipids có thể khiến ergosterol dễ dàng kết nối vào liên kết AmB, từ đó làm nhạy cảm các tế bào với AmB. Bari và cộng sự đã tìm thấy rằng biểu hiện quá mức gen PMP3, mã hóa protein Pmp3, đỉnh điểm là tăng kháng AmB ở cả *S. cerevisiae* và các chủng *C. albicans*. Trong khi xóa gen PMP3 giảm sức đề kháng AmB của chúng. Việc điều hòa kháng AmB qua trung gian Pmp3 không liên quan gì đến ergosterol, tính toàn vẹn của thành tế bào và Hsp90, nhưng phụ thuộc vào con

đường sinh tổng hợp sphingolipid. Điều này có thể được biểu hiện bằng thực tế là độ nhạy AmB của các chất xóa PMP3 có thể bị ức chế bằng cách bổ sung phytosphingosine, một con đường trung gian của sphingolipid. Như đã đề cập trước đây, biofilm là một phức hợp bao gồm men, pseudohyphae và sợi nấm, thường được bao quanh bởi một lớp bảo vệ gọi là ma trận ngoại bào để tránh khỏi sự tấn công của các thuốc chống nấm. Bệnh nhân suy giảm miễn dịch, đặc biệt là những người có thiết bị y tế dùng cấy ghép kéo dài, có xu hướng bị tiến triển tạo biofilm do *Candida* hơn. Alfatah và cộng sự đã xác nhận rằng các gen CaFEN1 và CaFEN12 có liên quan trong sinh tổng hợp sphingolipid rất quan trọng đối với tính toàn vẹn của thành tế bào và cho sự hình thành sợi nấm và biofilms ở *C. albicans*. *S. cerevisiae* đã xóa gen FEN1 và SUR4 và *C. albicans* đã xóa các gen chỉnh hình của chúng (CaFEN1 và CaFEN12) bị khiếm khuyết trong sinh tổng hợp sphingolipid, đỉnh điểm trong sự toàn vẹn của thành tế bào và sự hình thành bị phá vỡ sợi nấm và biofilm. Tất cả những điều này có lẽ góp phần tăng cường độ nhạy của tác nhân xóa bỏ FEN1 và SUR4 với AmB.

Có một sự hứa hẹn cho việc giới thiệu các thuốc tiềm năng, đặc biệt nhắm mục tiêu spakenolipids nấm. Những thuốc tiềm năng có thể được chia thành hai loại chính: thuốc nhắm mục tiêu sinh tổng hợp sphingolipids nấm và thuốc nhắm mục tiêu chức năng của spakenolipids trực tiếp. Các ưu điểm và nhược điểm của thuốc tiềm năng được tóm tắt trong Bảng 1:



**Bảng 1: Các thuốc nhắm mục tiêu sphingolipids**

Drugs	Ưu điểm	Nhược điểm
<i>Nhắm mục tiêu sinh tổng hợp sphingolipids nấm (chất ức chế enzyme chuyển hóa sphingolipid)</i>		
Thuốc ức chế SPT (myriocin, spakenofungin)	Suy giảm sự hình thành biofilm; có hiệu quả chống lại <i>Candida</i> và <i>Aspergillus</i> spp.	Độc với vật chủ; tăng cường tỷ lệ tử vong
Thuốc ức chế tổng hợp ceramide (australifungin, fumonisins B1)	Có phổ rộng về tác dụng kháng nấm chống lại <i>Candida</i> và <i>Aspergillus</i> spp. cũng như <i>Cryptococcus neoformans</i>	Độc với vật chủ; thiếu tính đặc hiệu
Các chất ức chế S1P, sphingosine kinase và lyase S1P	Độc tính cao đối với nấm; cải thiện phản ứng miễn dịch của vật chủ	Không có thuốc cho đến nay
Thuốc ức chế iPC (aureobasidin, galbonolide, khafrefungin, Rustmicin)	Hoạt động chống lại <i>Candida albicans</i> và <i>C. neoformans</i> ; suy giảm sự hình thành màng sinh học; lpc1 không có trong tế bào người	Thiếu tác dụng kháng nấm chống nấm mốc, như <i>Aspergillus</i> spp.
Thuốc ức chế tổng hợp GlcCer (D-threo-PDMP)	Có tác dụng kháng nấm chống lại <i>Aspergillus fumigatus</i> và <i>Aspergillus nidulans</i>	Độc với vật chủ; hiệu ứng ngoài mục tiêu; không có tác dụng đáng kể chống lại <i>C. neoformans</i>
Thuốc ức chế GlcCer (BHBM, D0)	Hiện thị hoạt động chống nấm chống lại <i>Candida</i> spp., <i>C. neoformans</i> , <i>A. fumigatus</i> và <i>Histoplasma capsulatum in vitro</i> và <i>in vivo</i> ; dung nạp tốt trong mô hình động vật	Cần nghiên cứu thêm
<i>Tác dụng hướng đích trực tiếp của sphingolipids (nhắm trực tiếp vào GlcCer)</i>		
RsAFP2 (defensins)	Không có tương tác chéo với GlcCer của con người; tác dụng với <i>C. albicans</i> ; làm suy yếu quá trình chuyển từ nấm men sang sợi nấm	Các chủng thiếu gen tổng hợp GlcCer là kháng với RsAFP2 (như <i>Candida glabrata</i> )
Monoclonal antibodies against GlcCer	Ức chế sự nảy mầm của conidia; tạo điều kiện thực bào bằng cách kích hoạt các đại thực bào; trình bày một tác dụng hiệp đồng với các thuốc chống nấm khác	Phổ kháng nấm tương đối hẹp

Chữ viết tắt: BHBM, N' - (3-bromo-2-hydroxybenzylidene)-2-methylbenzohydrazide; D-threo-PDMP, D-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol; D0, 3-bromo-N' - (3-bromo-4-hydroxybenzylidene) benzohydrazide; GlcCer, glucosylceramide; iPC, inositolphosphoryl ceramide; S1P, sphingosine-1-phosphate; SPT, almitoyltransferase serine.

### Các thuốc mới khác

Carboxymethyl chitosan (CM-chitosan) được ứng dụng rộng rãi ở thiết bị y tế dùng để can thiệp hoặc cấy ghép,

đã có sự gia tăng mạnh mẽ của *Candida* hình thành biofilm liên quan đến nhiễm trùng được phát hiện trên các bề mặt trong số các thiết bị này. Chitosan, một

loại dẫn xuất N-deacetylated của chitin, được đặc trưng bởi các tính chất của được kết dính sinh học, tương thích sinh học, phân hủy sinh học và không độc hại. Báo cáo trước đây cho biết chitosan có thể ức chế sợi nấm sinh trưởng và nảy mầm bào tử của các loại nấm khác nhau. Một số các nghiên cứu đã báo cáo hiệu quả hình thành chống biofilm mạnh mẽ của chitosan và các dẫn xuất của nó trên *C. albicans*. Quan sát qua kính hiển vi điện tử quét, biofilm đã giảm đáng kể mật độ trên bề mặt silicon được xử lý với CM-chitosan (một loại dẫn xuất chitosan) được so sánh đến bề mặt điều khiển. Điều này chỉ ra rằng CM-chitosan có thể ngăn ngừa hiệu quả *Candida spp.* từ sự kết dính bề mặt bằng cao su silicon được liệu (như giả giọng nói) và ức chế sự phát triển của nấm hỗn hợp biofilm ở các giai đoạn khác nhau trong một thời gian dài *in vitro*. Gần đây, Tan và cộng sự có cho rằng CM-chitosan đã gây ức chế mạnh ảnh hưởng đến sự hình thành biofilm của non-*C.albicans* bao gồm *C. tropicalis*, *Candida krusei*, *C. parapsilosis* và *C. glabrata*, đặc biệt là trên biofilm loài hỗn hợp. Tuy nhiên, cần thực hiện các nghiên cứu tiếp theo để khám phá xem silicone y tế được bao màng với CM-chitosan có tác dụng ức chế tác dụng đối với hỗn hợp nấm biofilm *in vivo*.

### Hạt nano bạc (AgNPs)

AgNP, vật liệu nano phổ biến nhất được sử dụng để chống nấm, được đặc trưng bởi độ dẫn điện cao, độ dẫn nhiệt cao và hoạt tính cao. AgNP có thể được tổng hợp thông qua các phương pháp thân thiện với môi trường, một trong số đó là

khử hóa học với cysteine. AgNP hiệu quả hơn với AmB, posaconazole, traconazole, voriconazole và caspofungine liên quan đến hoạt động kháng nấm trên *in vitro*. Artunduaga Bonilla cùng cộng sự đã chứng minh AgNP có hiệu quả gấp 640 lần so với fluconazole và đặc biệt có tác dụng kháng nấm chống lại *Candida spp.* kháng fluconazole. Nghiên cứu cũng báo cáo tác dụng gây độc tế bào ở mức rất thấp của AgNP trên nguyên bào sợi. Bên cạnh đó, hạt nano có thể tương tác với superoxide disutase, dẫn đến sự tích tụ của ROS, kích thích phản ứng và dẫn đến phá hủy ty thể.

### Chromogranin A-N46 (CGA-N46)

CGA là một loại protein hòa tan chủ yếu có trong tế bào thần kinh và tế bào nội tiết. CGA-N46, liên kết yếu Peptide  $\alpha$ -helical kiềm tương ứng với trình tự N-terminal Pro31-Gln76 (axit amin thứ 31 đến 76) của CGA của người, gần đây đã được xác định và sau đó được sản xuất trong chủng *Bacillus subtilis* B1342 được nghiên cứu bởi Li và cộng sự. Nhóm nghiên cứu báo cáo rằng ở nồng độ tương đối thấp, 0,8 mM, CGA-N46 đã chứng minh tác dụng kháng nấm mạnh chống lại tất cả các *Candida spp.* được thử nghiệm, bao gồm *C. glabrata*, *C.parapsilosis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* và *C. albicans*. Tuy nhiên, ngay cả ở nồng độ cao 3,2 mM, CGA-N46 cho thấy không có tiềm năng ức chế về sự tăng trưởng của nấm bất thường hoặc các loại nấm khác như *A. fumigatus*, *Aspergillus fl avus*, *Aspergillus niger*, *C. neoformans*, *Fusarium moniliforme*, một số *microsporum spp.* và *Trichophton spp.* Khi kết hợp với terbinafne và fluconazole, tác dụng kháng nấm chống lại nấm *Candida spp.*, đặc biệt

chống lại *C.krusei* có thể được tăng cường đáng kể. Ngoài ra, hoạt tính kháng nấm của chúng vẫn rất ổn định ở nhiệt độ 40°C (từ pH 5,0 đến pH 7,0). Li và cộng sự cũng cho rằng CGA-N46 tạo điều kiện cho sự mất ổn định của phospholipid đơn lớp của màng tế bào thông qua việc làm rối loạn sắp xếp phospholipid, dẫn đến vận chuyển CGA-N46 vào tế bào chất mà không phá hủy tính toàn vẹn hoặc tạo lỗ trong màng tế bào ngoài của *Candida spp.* Sự điều trị các tế bào *C. krusei* có CGA-N46 cũng dẫn đến tổn hại nghiêm trọng của màng ty thể, không bào của ty thể, biến dạng hoặc thậm chí thoái hóa của vách ty thể và phong tỏa chuỗi chuyển điện tử ty thể bằng việc làm giảm tiềm năng của màng ty thể làm chết tế bào. Kết quả PCR khẳng định rằng CGA-N46 ức chế sinh tổng hợp DNA của *Candida spp.* trong thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* bằng cách làm bất hoạt DNA polymerase. Dựa trên phân tích sinh học, nhiều loại CGA-N46 dẫn xuất được xác định sau khi loại bỏ một số trình tự axit amin liên quan từ CGA-N46. CGA-N8, CGA-N12, CGA-N15 và CGA-N16 là các peptide có nguồn gốc tổng hợp bằng phương pháp tổng hợp peptide pha rắn và được tinh chế bởi HPLC. CGA-N12 là chuỗi bên trong của CGA-N16 và CGA-N16 được đặt trong CGA-N46. CGA-N12, CGA-N16 và CGA-N46 có miền hoạt động giống nhau. CGA-N8 và CGA-N12 mạnh mẽ hơn, ổn định hơn các dẫn xuất khác. Tất cả các peptide dẫn xuất thể hiện tác dụng chống nấm mạnh hơn họ peptide CGA-N46, trong đó CGA-N12 đã chứng

minh hoạt tính kháng nấm mạnh nhất và độc tính tan máu yếu nhất và được phát hiện là một loại thuốc đầy hứa hẹn cho điều trị nấm candida.

### **Kết luận và quan điểm trong tương lai**

Tình trạng kháng nấm đang ở một mức độ đáng báo động do sự hạn chế các thuốc chống nấm thông thường. Cần hiểu rõ hơn về cơ chế kháng thuốc để có các phương pháp mới nhằm tăng cường hiệu quả điều trị của thuốc chống nấm hiện tại và giảm thiểu độc tính cho người bệnh. Các cơ chế khác nhau của kháng thuốc vẫn chưa được làm rõ. Tuy nhiên, các yếu tố hướng đích như Hsp90 / 21, calcineurin, trehalose sinh tổng hợp, ứng dụng vào sinh tổng hợp các loại thuốc hiện đại như CM-chitosan, AgNPs, CGA-N46, CGA-N12, chắc chắn sẽ cung cấp các chiến lược đáng khích lệ để ngăn chặn mầm bệnh nấm và hình thành phương pháp điều trị kết hợp với các loại thuốc mới trong điều trị nhiễm nấm. Hơn nữa, sự ức chế hình thành biofilm, sự phát triển bất thường của vi nấm, bơm đẩy thuốc hoặc ty thể cũng là một chiến lược đầy hứa hẹn để chống lại nấm gây bệnh. Tuy nhiên, một số thuốc tiềm năng sẽ gây độc. Do đó, theo dõi trị liệu và giám sát cẩn thận nên được tiến hành để xác định sự tiếp xúc với thuốc bao gồm liều lượng, nồng độ, công thức, cách dùng với mục đích tối ưu hóa đáp ứng điều trị và giảm thiểu tác dụng phụ. Cuối cùng, quản lý sử dụng thuốc thích hợp và quản lý bệnh nhân cũng rất quan trọng trong việc ngăn ngừa kháng thuốc.