

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ДЕФЕНСИНА ТАБАКА NaD1 С КОНВЕНЦИАЛЬНЫМИ АНТИМИКОТИКАМИ И ЭНДОГЕННЫМИ АНТИМИКРОБНЫМИ ПЕПТИДАМИ

О.В. Шевченко^{1,2}, С.И. Фатеева^{2,3}, С.В. Баландин², Т.В. Овчинникова^{1,2,3}, Е.И. Финкина²

¹ Московский физико-технический институт, Москва, Россия

² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Candida albicans является частой причиной развития грибковых заболеваний у человека. В норме этот дрожжеподобный грибок является частью микробиома человека. Однако снижение иммунитета может привести к неконтролируемому росту гриба, формированию устойчивых биопленок и развитию местного или опасного для жизни системного кандидоза. Ввиду распространенности резистентных штаммов грибов рода *Candida* и ограниченности списка применяемых препаратов растет потребность в поиске новых антимикотиков, прототипами которых могут быть растительные дефенсины. Представляется актуальным поиск эффективных комбинаций растительных дефенсинов не только с конвенциональными антимикотиками, но и с эндогенными антимикробными пептидами (АМП), имеющими иной механизм противогрибкового действия. Объектом нашего исследования являлся дефенсин табака NaD1, обладающий противогрибковой активностью в микромолярных концентрациях. Основной мишенью его действия является компонент клеточной мембраны грибов фосфатидилинозитол – 4,5-бисфосфат (PI(4,5) P2). Однако NaD1 взаимодействует также с β -глюканом клеточной стенки грибов, а, проникая внутрь грибной клетки, вызывает окислительный стресс.

В экспериментах использовались коллекционные штаммы *C. albicans* ATCC 18804 и ATCC 10231, а также клинические изоляты 1.1, 8.2, 9.1 и 14.1, выделенные от пациентов с ВИЧ-инфекцией. *C. albicans* ATCC 10231, а также все использованные клинические изоляты характеризовались пониженной чувствительностью к производным триазолов. Рекомбинантный NaD1 был получен путем гетерологичной экспрессии в клетках *Escherichia coli* по разработанной ранее схеме. На первом этапе исследование проводили методом «шахматной доски», используя антимикотики трех групп: полиены (амфотерицин В); производные триазола (вориконазол); эхинокандины (каспофунгин, анидулафунгин и микафунгин). Для оценки типа совместного действия веществ рассчитывали индекс фракционной ингибирующей концентрации (иФИК). NaD1 и амфотерицин В, связывающий эргостерол клеточной мембраны грибов, в комбинации действовали независимо ($1 < \text{иФИК} \leq 2$). В смеси NaD1 с вориконазолом, ингибирующим биосинтез эргостерола, наблюдалось аддитивное действие веществ ($0,5 < \text{иФИК} \leq 1$). В комбинации NaD1 с каспофунгином, который ингибирует биосинтез β -глюканов клеточной стенки грибов, наблюдалось аддитивное или синергическое действие веществ ($\text{иФИК} \leq 0,5$) в случае различных штаммов гриба. Иная картина наблюдалась для анидулафунгина и микафунгина, имеющих тот же механизм действия, но отличающихся по химическому строению от каспофунгина. Комбинации дефенсина с анидулафунгином характеризовались аддитивным действием. NaD1 и микафунгин в комбинации действовали независимо друг от друга.

На втором этапе работы исследовались комбинации NaD1 с эндогенными АМП человека – дефенсином HBD2 и кателицидином LL-37, которые синтезируются различными клетками, обладают антикандидозной активностью и характеризуются преимущественно мембранотропным действием. HBD2, также как и NaD1, обладает сродством к PI(4,5) P2. LL-37 взаимодействует не только с клеточной мембраной грибов, но и с ферментом, участвующим в биосинтезе β -глюкана. Рекомбинантные HBD2 и LL-37 были получены схожим с NaD1 биотехнологическим способом. Интересно, что комбинации NaD1 с обоими эндогенными пептидами, как с HBD2, так и с LL-37, в зависимости от штамма *C. albicans* характеризовались аддитивным или синергическим действием.

Таким образом, нами были выявлены комбинации дефенсина табака NaD1 с конвенциональными антимикотиками и эндогенными пептидами, способные эффективно подавлять рост чувствительных и резистентных штаммов *C. albicans*.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 24-25-00482).