

## Rola błony i ściany komórkowej *Candida albicans* w odpowiedzi zapalnej

*Candida albicans* jest oportunistycznym patogenem grzybiczym, który stanowi część mikrobiomu zdrowego człowieka, nie prowadząc do wystąpienia jednostek chorobowych. Jednak w przypadku ludzi z obniżoną odpornością immunologiczną wywołuje zagrażające życiu infekcje nazywane kandydozami. Problemem w leczeniu zakażeń związanych z rodzajem *Candida* spp. jest również występowanie wielolekooporności szczepów izolowanych od pacjentów, co przyczynia się do wysokiej śmiertelności, sięgającej nawet do 80%.

Zjawisko wielolekooporności wiąże się z ograniczoną ilością grup leków, które są stosowane w terapiach zakażeń grzybiczych, co pozwoliło na wykształcenie się wielu mechanizmów nabierania oporności przez *C. albicans*. Jedną z najczęściej obserwowanych strategii pozyskiwania oporności na szeroko stosowane leki z grupy azoli są substytucje aminokwasów w sekwencji białka Erg11. Wiązanie się leków azolowych do tego enzymu skutkuje zahamowaniem szlaku biosyntezy ergosterolu i w konsekwencji inhibicją wzrostu patogenu.

Ważnym aspektem zakażeń jest wirulencja *C. albicans* (wzrost w formie strzępek i biofilmu, obecność białek zapewniających adhezję do tkanek gospodarza) oraz obecność charakterystycznych cząsteczek na powierzchni komórek grzyba, które są rozpoznawane przez receptory komórek człowieka. Rozpoznanie patogenu skutkuje odpowiedzią zapalną i rekrutacją komórek układu immunologicznego do miejsca infekcji.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu zmian w błonie i ścianie komórkowej *C. albicans* na odpowiedź zapalną komórek ludzkich. Badane szczepy *C. albicans* charakteryzują się obecnością mutacji polegającej na substytucji lizyny na argininę w pozycji 143 sekwencji aminokwasowej Erg11 (*ERG11<sup>K143R/K143R</sup>*) lub delecji genu kodującego to białko (*erg11Δ/Δ*), co prowadzi do braku ergosterolu w błonie komórkowej.

Udowodniono, że badane szczepy *C. albicans* wykazują zwiększoną oporność na flukonazol oraz w przypadku *C. albicans erg11Δ/Δ* na amfoterycynę B. Udowodniono, że szczep *C. albicans ERG11<sup>K143R/K143R</sup>* charakteryzuje się podwyższoną ekspresją genu *ERG11*, co przekłada się na podniesienie poziomu ergosterolu w błonie komórkowej mutanta.

Analiza kompozycji ściany komórkowej badanych szczepów *C. albicans* wykazała, że charakteryzuje się ona ekspozycją chityny oraz β-glukanu na powierzchni komórek. Badane

szczyepy *C. albicans* przejawiają znacząco podwyższoną ekspresję genów kodujących enzymy zaangażowane w syntezę chityny oraz  $\beta$ -glukanu.

Zaobserwowane zmiany w błonie oraz ścianie komórkowej badanych szczepów *C. albicans* przekładają się także na ich wirulencję. W ramach niniejszej pracy dowiedziono, że szczepy *C. albicans* *ERG11<sup>K143R/K143R</sup>* i *erg11 $\Delta/\Delta$*  charakteryzują się znacznie podniesioną hydrofobowością powierzchni komórek, która jest istotna w trakcie adhezji do tkanek gospodarza. Ponadto udowodniono, że szczep *C. albicans* pozbawiony ergosterolu w błonie komórkowej odznacza się brakiem zdolności do wzrostu w formie biofilmu. Analiza ekspresji genów kodujących białka odpowiedzialne za adhezję patogenu wykazała znacząco podwyższoną ekspresję wybranych genów kodujących kluczowe adhezyny *C. albicans*.

Wykryte różnice pomiędzy badanymi szczepami w stopniu wirulencji przekładają się także na odmienną odpowiedź zapalną ludzkich linii komórkowych, które stanowią model *in vitro* miejsc bytowania *C. albicans* w ciele człowieka. Dowiedziono, że infekcja *C. albicans* *erg11 $\Delta/\Delta$*  prowadzi do znacząco obniżonej odpowiedzi zapalnej. Z kolei infekcja linii komórkowych *C. albicans* *ERG11<sup>K143R/K143R</sup>* prowadzi do produkcji większej ilości wybranych cytokin oraz podniesienia ekspresji genów kodujących interleukiny.

Uzyskane wyniki prowadzą do poszerzenia wiedzy w zakresie mechanizmów infekcji *C. albicans* oraz dostarczają nowych informacji w zakresie roli ergosterolu obecnego w błonie grzybów na fenotyp i wirulencję komórek oraz wpływie tych zmian na odpowiedź zapalną gospodarza.