

## **Rola sfingolipidów błony plazmatycznej *Candida albicans* w potencjalnie nowym mechanizmie lekooporności i w odpowiedzi zapalnej**

Grzyby *Candida albicans* są patogenami oportunistycznymi ludzi, które w obecności chorób współistniejących mogą doprowadzić do śmierci pacjentów. Ponieważ grzyby i ludzie należą do *Eukariota* istnieje szereg podobieństw w strukturze i funkcjonowaniu ich komórek, stąd trudno jest znaleźć takie leki przeciwgrzybowe, które nie szkodziłyby komórkom ludzkim, a zabijałyby grzyby.

Powszechnie stosowane leki przeciwgrzybowe celują w ergosterol błon komórkowych (leki polienowe, np. amfoterycyna B) lub szlak jego biosyntezy (leki azolowe, np. flukonazol). Stosowane są także echinokandyny (np. kaspofungina), uszkodzające ścianę komórkową grzybów. Jednakże grzyby wykształciły szereg mechanizmów obronnych przed lekami. U *C. albicans* znane są procesy takie jak wyrzucanie leków z komórki przez transportery błonowe czy dosyntezywanie ergosterolu. Ciągłe wzrastająca lekooporność *C. albicans* wymusza na badaczach podejmowanie wysiłków zmierzających do wymyślenia nowych struktur związków przeciwgrzybowych, nowych strategii zwalczania grzybic, jak i poznawanie procesów fizjologicznych, które mogą pomóc w rozpoznaniu nowych celów dla leków.

Ostatnio zwrócono uwagę na oddziaływanie sfingolipidów z ergosterolem w błonach grzyba niepatogennego – drożdży piekarskich (*Saccharomyces cerevisiae*). Te dwa rodzaje lipidów układają się w błonach w sztywne struktury zwane domenami, zapewniającymi prawidłową lokalizację wybranych białek, w tym transporterów wyrzucających leki z komórki. Wydaje się, że kiedy na skutek działania flukonazolu w błonie brakuje ergosterolu, drożdże syntezują większą ilość sfingolipidów, które mogą równoważyć ubytek ergosterolu. Badania pokazują, że zmienia się wtedy także aktywność niektórych enzymów szlaku biosyntezy sfingolipidów, przez co syntezowane są sfingolipidy o specyficznej budowie.

Niewiele jest natomiast wiadomo o powyższych procesach u *C. albicans*, choć istnieją już przesłanki pozwalające sądzić, że może być to jeszcze nieodkryty mechanizm oporności na leki.

W proponowanym projekcie chcemy przebadać oddziaływanie sfingolipidów z ergosterolem w błonie komórkowej *C. albicans* pod wpływem leków azolowych i amfoterycyny B. Na podstawie uzyskanych wyników potwierdzających proces kompensowania ergosterolu sfingolipidami można będzie zaproponować nową strategię leczenia przy zastosowaniu mieszaniny azoli z inhibitorami szlaku biosyntezy sfingolipidów. Powyższe zadania chcemy zbadać przy pomocy *C. albicans* z usuniętymi wybranymi genami kodującymi enzymy szlaku biosyntezy sfingolipidów i ergosterolu. Będą prowadzone hodowle, izolowana błona komórkowa (plazmalema) i analizowane ilości sfingolipidów o specyficznej, zmienionej strukturze, a także będą badane właściwości biofizyczne błony w komórkach w/w mutantów i w określonych warunkach stresu.

Nasze badania z ostatnich miesięcy dowiodły, że ubytek ergosterolu w błonie *C. albicans* wywołuje zmiany w ścianie komórkowej tego grzyba, powodując między innymi jej odmaskowanie przed układem immunologicznym gospodarza. W proponowanym projekcie chcielibyśmy zbadać jak obrona *C. albicans* przed utratą ergosterolu, w której syntezowane są sfingolipidy o specyficznej budowie wpłynie na budowę ściany komórkowej tego grzyba i wywoływanie reakcji zapalnej w komórkach ssaczy. Mamy zamiar posłużyć się ko-kulturami mutantów *C. albicans* z komórkami fibroblastów skóry oraz komórkami nabłonka pochwy. Chcemy zmierzyć przede wszystkim poziom cytokin pro- i przeciwzapalnych. Będziemy również badali zmiany w poszczególnych elementach ściany komórkowej stosując metody fluorescencyjne ilościowe (FACS) jak i obrazowanie w mikroskopie konfokalnym i mikroskopie superrozdzielczym.

Nasz projekt należy do dziedziny badań podstawowych i ma na celu lepsze poznanie mechanizmów obrony komórek *C. albicans* przed znanymi lekami. Dodatkowo, wyniki mogą mieć znaczenie dla aplikacji praktycznych. Odkrycie nowego mechanizmu lekowej oporności może dostarczyć wskazówek przydatnych w poszukiwaniu sposobów zwalczania grzybic wywołanych tym patogenem.