

УДК 579.234

DOI: 10.14427/jipai.2021.4.60

Клеточная стенка как медиатор патогенной активности грибов рода *Candida sp.*

О.В. Еноктаева, М.В. Николенко, Д.Ю. Трушников, Н.В. Барышникова
ФГБОУ ВО ТюмГМУ Минздрава РФ, Тюмень

The cell wall as a mediator of the pathogenic activity of fungi of the genus *Candida sp.*

O.V. Enoktaeva, M.V. Nikolenko, D.Yu. Trushnikov, N.V. Baryshnikova
Tyumen State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Аннотация

Изучение химического состава клеточной стенки грибов рода *Candida sp.* является актуальным направлением в современной медицине, позволяющим разрабатывать новые методы лечения кандидоза. Полисахариды маннан, глюкан и хитин образуют каркас клеточной стенки, внутри и на поверхности которого присутствуют белки и другие молекулы. Компоненты клеточной стенки выполняют широкий спектр функций: защищают содержимое клетки от внешних факторов; обеспечивают питание, дыхание, размножение и формирование клеток различной морфологии; обуславливают патогенные свойства грибов, в том числе формирование биопленок, распространение и способность модулировать иммунный ответ хозяина.

Ключевые слова

Candida sp., клеточная стенка, полисахариды, белки, методы лечения.

Summary

The study of the chemical composition of the cell wall of fungi of the genus *Candida sp.* is an actual trend in modern medicine, allowing the development of new methods for the treatment of candidiasis. The polysaccharides mannan, glucan, and chitin form the framework of the cell wall, inside and on the surface of which proteins and other molecules are present. The components of the cell wall perform a wide range of functions: protect the contents of the cell from external factors; provide nutrition, respiration, reproduction and formation of cells of various morphologies; mediate the pathogenic properties of fungi, including biofilm formation, spread, and the ability to modulate the host's immune response.

Keywords

Candida sp., cell wall, polysaccharides, proteins, methods of treatment.

Грибы рода *Candida sp.* как объект современной науки

Клеточное строение грибов полифилетического рода *Candida sp.* является типичным для царства грибов. В их цитоплазме, как и у всех высших грибов, можно обнаружить только одно ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, первичные и вторичные лизосомы, хитосомы, рибосомы 80s, микротрубочки и различные включения: основной резервный углевод гликоген, волютин, липидные капли и другие компоненты [1].

Учитывая то, что со временем растет количество представителей данного рода, обладающих

условно-патогенными свойствами, и постепенно повышается их устойчивость к антифугальным препаратам, необходимо искать «слабые места» в клеточном строении грибов, позволяющие сдерживать развитие кандидозной инфекции внутри организма хозяина.

Разработка антифугальных лекарств является современным направлением в медицине. Внимание ученых приковано к белку плазматической мембраны *Candida albicans* Msb2, который участвует в поддержании структурной целостности клеточной стенки и филаментации. Расшифровка биосинтеза эргостерола повысила эффектив-

ность лечения кандидозных инфекций благодаря применению группы азольных препаратов. Выделение и очищение молекул глюкана из клеточных стенок грибов дали возможность изучить их структуру и понять механизмы распознавания этих молекул хозяином [2, 3].

Клеточная стенка как медиатор патогенной активности принимает участие в развитии кандидозной инфекции в организме теплокровного хозяина. Клеточная стенка является пластичной многофункциональной внеклеточной структурой, обеспечивающей защиту содержимого клетки, образование септ в псевдогифах, вегетативное бесполое размножение почкованием, формирование и рост клеток с различной морфологией – бластоспор, хламидоспор, мицелия и/или псевдомицелия, ростовых трубок, GUT-клеток и клеток Голиафа у *C. albicans* и, соответственно, изменение метаболизма внутри них. Также эта структура выполняет сигнальную и рецепторную функции, участвует в распознавании клеток-мишеней хозяина [1, 4].

Углеводы клеточной стенки грибов рода *Candida sp.*

Основную часть (до 80%) сухого веса клеточной стенки составляют полисахариды маннан (фосфопептидо-маннановый комплекс), β -глюкан (производное D-глюкозы) и хитин (макрофибриллы N-ацетил-D-глюкозамина); на долю белков приходится до 20%; на долю гликолипидов – 1-7%, в оставшиеся 1-2% входят ионы неорганических солей, полифосфаты и пигменты.

По составу полисахаридов эта структура является трехслойной органеллой. Слой клеточной стенки, расположенный над плазмалеммой, на 95% состоит из хитина и на 5% – из хитозана. Этот слой вместе с β -1,3 глюканом придает механическую прочность клеточной стенке и отвечают за форму клетки. Их пронизывают β -1,6-глюканы – это молекулы-линкеры, связывающие между собой большинство белков клеточной стенки и GPI-якоря цитоплазматической мембраны. Клеточные стенки гиф содержат в три раза меньше молекул β -1,6-глюканов, чем стенки бластоспор, поэтому дрожжевые клетки легче распознаются антителами хозяина. Но количество полисахарида β -1,3 глюкана в два раза больше в гифальных клетках, чем в дрожжевых. На средний слой, состоящий из глюканов, приходится до 50-60% от всего сухого веса клеточной стенки, на внешний слой, образованный маннанами, – до 40%, в то время как на хитин – от 1-2% в дрож-

жевых клетках и 4-6% в гифальных, при этом 90% хитина сконцентрировано в септах между материнской и дочерней клетками.

Пористость и низкую проницаемость клеточной стенки для антифугальных препаратов обеспечивает внешний слой, образованный маннопротеинами. Фимбрии длиной от 110 до 300 нм, представляющие собой высокогликозилированный гликопротеин (маннан и белок), находятся на поверхности клетки и обеспечивают адгезию не только к тканям хозяина, но и к различным медицинским устройствам – катетерам, имплантам, эндопротезам и т.д., что способствует развитию инфекции внутри организма человека [1, 2, 5].

Протеом клеточной стенки грибов рода *Candida sp.*

Динамичным компонентом является и протеом клеточной стенки грибов рода *Candida sp.*

По принципу образования химических связей с полисахаридной матрицей белки клеточной стенки делятся на три класса.

Большинство маннопротеинов клеточной стенки относится к основному классу ковалентно-связанных GPI-CWP белков, для которых характерно прикрепление к GPI-якорю цитоплазматической мембраны с помощью молекул β -1,3-глюкана и β -1,6-глюкана. Многие белки GPI являются ферментами, принимающими участие в биосинтезе клеточной стенки (рис. 1) [2, 6].

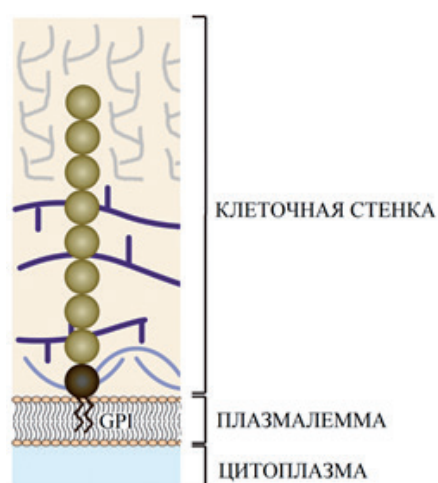


Рис. 1. Схема строения GPI-заякоренного белка клеточной стенки грибов рода *Candida*. GPI – гликозилфосфатидилинозитол (ГФИ-якорь) цитоплазматической мембраны. Маннаны представлены серым цветом, β -глюкановый полимер – фиолетовым цветом, а хитиновый слой – голубым цветом

В качестве примера можно привести хорошо известный комменсал человека *C. glabrata*, содержащий более 80 генов, кодирующих белки GPI-CWP. Мультибелковое семейство Era обладает широким спектром выполняемых функций. Данные адгезины способны прикрепляться к гликанам эпителиальных клеток хозяина, напрямую связываются с различными белками человека, включая муцины, фибронектин и фактор некроза опухоли, а некоторые из них способствуют колонизации абиотических поверхностей. Следует отметить, что, чем больше GPI-заякоренных адгезинов присутствует в клеточной стенке у конкретного штамма, тем более вирулентными свойствами он обладает [7].

Для небольшой группы Pir-белков (proteins with internal repeats) характерны внутренние повторяющиеся последовательности аминокислоты глутамина, способной модифицироваться до глутаминовой кислоты, которая, в свою очередь, образует ковалентные связи с β -1,3-глюканом. Многофункциональный белок клеточной стенки *C. albicans* Pir32 участвует в филаментации, отложении хитина, способствует вирулентности и устойчивости к окислительному стрессу [14, 15].

К третьему классу относятся маннопротеины, не образующие ковалентных связей с полисахаридной матрицей. Некоторые из этих белков могут быть гетерогенно распределены на поверхности клетки и секретироваться во внешнюю среду. На клеточной стенке гиф и бластоспор *C. albicans* выделен белок Pra1p, отвечающий за связывание фибриногена хозяина [6].

Клеточная стенка экскретирует во внеклеточную среду гидролитические ферменты, расщепляющие крупные субстраты на более мелкие, которые в дальнейшем могут быть транспортированы в клетку в качестве источника питания. Те же самые ферменты обладают и вирулентными свойствами, так как они участвуют в колонизации или инвазии подложек внутри хозяина. К внеклеточным ферментам относят супероксиддисмутазы, протеазы, фосфолипазы, липазы, фосфатазы, глюкоамилазы, аспартил-протеазы и другие [6, 10]. По типу дыхания грибы рода *Candida* являются аэробами, они способны ферментировать и ассимилировать углеводы, обладают гликофилией, то есть проявляют тропизм к тканям, богатым гликогеном – запасным веществом не только клеток грибов, но и животных [1, 11].

Часто в научной литературе можно увидеть, что одно и то же семейство многофункциональных белков клеточной стенки называют раз-

личными терминами. Адгезины семейства Als, ответственные за первичное взаимодействие с клетками хозяина, часто называют лигандами или лектинами. Для них характерны определенная локализация в зависимости от фенотипа клетки (бластоспоры, ростовые трубки, нитчатые структуры) и значение pH окружающей среды, при котором они могут функционировать. Некоторые семейства адгезинов можно обнаружить у штаммов одного вида, другие – имеют гомологов среди нескольких видов.

Адгезины грибов рода *Candida* являются многофункциональными факторами вирулентности. Они «помогают ориентироваться» в пространстве – выбирать биотические или абиотические субстраты внутри организма хозяина, пригодные для их жизнедеятельности; обладают специфичностью к поражаемым тканям; участвуют в образовании моновидовой биопленки или гетеротипической ассоциации из бактериальных и грибных клеток; регулируют процессы инвазии, колонизации и фенотипического переключения; взаимодействуют с клетками хозяина и «соседями» по биопленке; изолируют химические вещества из своего места обитания; снижают эффективность антифугальной резистентности организма хозяина [10].

Также в клеточной стенке бластоспор обнаружены белки-регуляторы антиадгезии *uwpr1* и *hsp90*, ослабляющие адгезивные свойства биопленки на стадии диффузии [12, 13].

Ремоделирование клеточной стенки грибов рода *Candida sp.* в процессе жизнедеятельности клетки

Толщина и химический состав клеточной стенки могут сильно варьироваться в процессе жизнедеятельности грибов в зависимости от стадий формирования биопленки и жизненного цикла клетки, pH среды, иммунного ответа хозяина, наличия питательных веществ и антифугальных препаратов в окружающей среде. Так, например, по сравнению с бластоспорами в гифах количество хитина увеличивается, а содержание маннопротеинов уменьшается, что делает клеточную стенку гиф более жесткой. В тех случаях, когда нарушен метаболизм хитина, клетки становятся бесформенными, процесс осморегуляции нарушается. В результате точечных мутаций снижение выработки β -глюкана компенсируется более активной продукцией хитина, что приводит к повышенной устойчивости к классу антифугальных препаратов эхинокандинам. Наибольшая толщина

клеточной стенки наблюдается в стационарной фазе [1, 2, 6, 8, 14].

Патогенные микроорганизмы могут изменять содержание глюкана в составе своих клеточных стенок, чтобы избежать иммунного распознавания клетками хозяина. Интересным фактом является то, что параллельно происходят два противоположных процесса: наличие β -глюкана стимулирует экспрессию дектина-1 в клетках хозяина, а грибок *C. albicans* уменьшает выработку глюканов, чтобы оставаться неопознанным иммунными клетками хозяина [2].

CLR представляют собой большое семейство гетерогенных трансмембранных лектиновых рецепторов С-типа дендритных и других миелоидных клеток (лейкоцитов, макрофагов, нейтрофилов, Т-клеток и др.), которые активируют противогрибковый иммунитет мышей и людей, а также принимают участие в борьбе с вирусами и бактериями. В распознавании углеводных компонентов клеточной стенки и уничтожении клеток грибов принимают участие Дектин-1, Дектин-2, Дектин-3 и Mincle, рецептор маннозы (MR), SIGNR-1 и галектин-3 [10, 15].

Дектин-1 (также известный как Clec7a) является наиболее изученным белком плазматической мембраны CLR. Он связывается с β -1,3-глюкановым полимером в клеточной стенке бластопоор *C. albicans* и запускает такие иммунные реакции, как фагоцитоз, выработку АФК (активные формы кислорода), высвобождение цитокинов и активацию других иммунных клеток. Дектин-2 (также известный как Clec4n) предпочтительно участвует в распознавании α -маннанов и β -глюканов гифальных клеток *C. albicans* и защищает организм хозяина от кандидозной инфекции, вызванной *Candida glabrata* [16, 17, 18].

Почкование – бесполой способ размножения грибов рода *Candida sp.* Индукция образования дочерних клеток происходит в момент, когда материнские клетки достигают критического размера и запущен процесс синтеза ДНК. Экструзия цитоплазмы в область новой почки происходит в результате локализованного ослабления клеточной стенки и высокого тургорного давления. Процесс ремоделирования клеточной стенки между материнской и дочерней клетками в период пролиферации возможен благодаря совместной работе ферментов цитоплазматической мембраны и самой клеточной стенки. Гидролиз и синтез хитина и глюкана скоординированы во времени и пространстве, что также позволяет продуцировать клетки с различными фенотипами [1, 2, 4].

Специализированными компартаментами клетки дрожжей являются производные комплекса Гольджи – хитосомы, транспортирующие энзим хитинсинтетазу в зимогенной (малоактивной) форме от эндоплазматической сети до плазмолеммы, где активность фермента регулируется (повышается) высокими концентрациями АТФ. Данный фермент принимает участие в синтезе хитина для ремоделирования клеточной стенки при почковании между дочерней и материнской клетками. По количеству рубцов на материнской клетке можно узнать, сколько дочерних клеток от нее отделилось.

Пролиферация клеток активно идет на стадии колонизации тканей хозяина. Бластоспоры, образованные в процессе бесполого размножения, также участвуют в распространении инфекции по организму человека. Наибольшая концентрация хитосом наблюдается у апикального конца гиф, где происходит активный рост клетки и ремоделирование клеточной стенки на стадии созревания биопленки и ее инвазии в ткани хозяина [1, 11, 19].

Клеточная стенка *Candida sp.* как фактор адаптации к условиям макроорганизма

Отметим, что клеточная стенка – это внеклеточное образование, которое позволило в ходе эволюции сформировать между теплокровным хозяином и условно-патогенными грибами рода *Candida* сложные взаимоотношения.

С одной стороны, можно наблюдать противостояние двух сторон: распознавая компоненты клеточной стенки грибов, организм человека различными путями препятствует проникновению патогена в собственные ткани, вырабатывает факторы, ингибирующие рост и приводящие к гибели грибной клетки, а также ограничивает противника в доступе химических веществ, необходимых для их жизнедеятельности [11, 12, 20, 21]. Под действием лекарственных веществ активизируются молекулярные механизмы, защищающие грибную клетку.

В свою очередь представители рода *Candida* выработали способы, позволяющие им избегать иммунных атак хозяина, маскируя молекулы-мишени фосфопептидо-манновым комплексом. Эффективность ликвидации патогенов фагоцитами зависит от размеров и формы клетки гриба, химического состава его клеточной стенки и механизмов, позволяющих избегать собственной гибели внутри фагоцитарных клеток [22]. С другой стороны, организму хозяина выгодно иметь грибы рода *Candida* в качестве комменсала, так как они вступают в конкурентные отношения за ресурсы с более патогенными микроорганизмами [6].

Заключение

Современной научной парадигмой по изучению борьбы с патогенными штаммами *Candida* sp. является установление связи между врожденным иммунным ответом, опосредованным дектином-1, и адаптивным гуморальным иммунитетом. Предполагается, что изучение клеточной стенки грибов

позволит разработать вакцину, способную защищать от инвазивного кандидоза [23].

Именно по этой причине ученые со всего мира пытаются расшифровать химический состав клеточной стенки, чтобы в дальнейшем можно было контролировать взаимоотношения человека и условно-патогенных представителей рода *Candida*.

Литература

1. Камзолкина О.В., Дунаевский Я.Е. Биология грибной клетки. Учебное пособие. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2017, 239 с.
2. Refai M., El-Enbawy M., Hassan A. A. Monograph on *Candida albicans*, 2015.
3. Szafranski-Schneider E., Swidergall M., Cottier F. et al. Msb2 shedding protects *Candida albicans* against antimicrobial peptides. *PLoS pathogens*. 2012. 8(2): e1002501. DOI:10.1371/journal.ppat.1002501.
4. Malavia D., Lehtovirta-Morley L. E., Alamir O. et al. Zinc limitation induces a hyper-adherent goliath phenotype in *Candida albicans*. *Frontiers in microbiology*. 2017; 8:: 2238. DOI:10.3389/fmicb.2017.02238.
5. Garcia-Rubio R., de Oliveira H. C., Rivera J. et al. The fungal cell wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* species. *Frontiers in microbiology*. 2020; 10: 2993. DOI:10.3389/fmicb.2019.02993.
6. Chaffin W.L.J. *Candida albicans* cell wall proteins. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2008; 72(3): 495-544. DOI:10.1128/MMBR.00032-07.
7. Essen L. O., Vogt M. S., Mösch H. U. Diversity of GPI-anchored fungal adhesins. *Biological Chemistry*. 2020; 401(12): 1389-1405. DOI:10.1515/hsz-2020-0199.
8. Sherrington S.L., Sorsby E., Mahtey N. et al. Adaptation of *Candida albicans* to environmental pH induces cell wall remodelling and enhances innate immune recognition. *PLoS pathogens*. 2017; 13(5): e1006403. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006403.
9. El Khoury P., Awad A., Wex B. et al. Proteomic analysis of a *Candida albicans* pir32 null strain reveals proteins involved in adhesion, filamentation and virulence. *Plos one*. 2018; 13(3): e0194403. DOI: 10.1371/journal.pone.0194403.
10. Еноктаева О.В., Николенко М.В., Трушников Д.Ю. и соавт. Механизм формирования биопленок грибов рода *Candida* при кандидозной инфекции. *Проблемы медицинской микологии*. 2021; 23(4): 4-9. DOI: 10.24412/1999-6780-2021-4-3-8.
11. Kavanagh K., editor. *Fungi: Biology and Applications*, 3rd Edition. Wiley-Blackwell. 2017, 416 p.
12. Targalska M., Kunicka-Styczyńska A. *Candida* biofilms: Environmental and clinical aspects. *The Yeast Role in Medical Applications*. IntechOpen, 2017. DOI: 10.5772/intechopen.70703.
13. Abdulkhair W.M.H., editor. *The Yeast Role in Medical Applications*. IntechOpen, 2018, 176 p. DOI: 10.5772/intechopen.70591.
14. Munro C.A. Chitin and glucan, the yin and yang of the fungal cell wall, implications for antifungal drug discovery and therapy. *Advances in applied microbiology*. Academic Press 2013; 83: 145-172. DOI: 10.1016/B978-0-12-407678-5.00004-0.
15. Hutcheon C., Paulvannan P., Subramanian N. Cytoplasmic Sensing in Innate Immunity. *Encyclopedia of Cell Biology* 2016; 3: 710-726. DOI: 10.1016/B978-0-12-394447-4.30108-0.
16. Chen S.M., Shen H., Zhang T. et al. Dectin-1 plays an important role in host defense against systemic *Candida glabrata* infection. *Virulence*. 2017; 8(8): 1643-1656. DOI: 10.1080/21505594.2017.1346756.
17. Ohls R.K., Maheshwari A. *Hematology. Immunology and Infectious Disease: Neonatology Questions and Controversies: Expert Consult-Online and Print*. Elsevier Health Sciences. 2012, 345 p. DOI:10.1016/C2009-0-63835-6.
18. Ifrim D.C., Bain J.M., Reid D.M. et al. Role of Dectin-2 for host defense against systemic infection with *Candida glabrata*. *Infection and immunity*. 2014; 82(3): 1064-1073. DOI:10.1128/IAI.01189-13.
19. Aoki W., Kitahara N., Miura N. et al. Profiling of adhesive properties of the agglutinin-like sequence (ALS) protein family, a virulent attribute of *Candida albicans*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2012. 65(1): 121-124. DOI:10.1111/j.1574-695X.2012.00941.x
20. Hoyer L.L., Cota E. *Candida albicans* agglutinin-like sequence (Als) family vignettes: a review of Als protein structure and function. *Frontiers in microbiology*. 2016; 7: 280. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00280.
21. Halliwell S.C., Smith M.C., Muston P. et al. Heterogeneous expression of the virulence-related adhesin Epa1 between individual cells and strains of the pathogen *Candida glabrata*. *Eukaryotic cell*. 2012; 11(2): 141-150. DOI: 10.1128/EC.05232-11.
22. Erwig L.P., Gow N.A. R. Interactions of fungal pathogens with phagocytes. *Nature Reviews Microbiology*. 2016; 14(3): 163-176. DOI: 10.1038/nrmicro.2015.21.
23. Shen H., Yu Y., Chen S. M. et al. Dectin-1 Facilitates IL-18 production for the generation of protective antibodies against *Candida albicans*. *Frontiers in microbiology*. 2020; 11: 1648. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01648.

Сведения об авторах

Еноктаева Ольга Викторовна - ФГБОУ ВО ТюмГМУ Минздрава РФ. Тел. +7-908-878-87-46, E-mail: pechkanova@mail.ru.

Статья принимает участие в конкурсе научных публикаций по медицинской микологии, объявленном Академией Микологии в 2021 году