

## STRESZCZENIE

*Candida albicans* to oportunistyczny patogen mający zdolność kolonizowania i infekowania gospodarza, powodując osłabiające organizm infekcje błon śluzowych, jak i zagrażające życiu infekcje ogólnoustrojowe [104,138,208,273]. Jednym z mechanizmów adaptacji komórek *C. albicans* do kolonizacji organizmu gospodarza jest wysoka zmienność genetyczna m.in. obserwowana na poziomie chromosomowym. Zmienność chromosomowa komórek *C. albicans* związana jest często z masowymi rearanżacjami genomowymi, w tym zmianami w ploidalności komórek. Rearanżacje genomowe prowadzą do wytworzenia w obrębie populacji *C. albicans* komórek o zmienionym fenotypie, zapewniającym im istotną przewagę podczas infekcji w odniesieniu do komórek populacji wyjściowej [150,169,209,240,285]. Dynamika reorganizacji genomu *C. albicans* może być istotnie modyfikowana przez obecność różnych czynników egzogennych [115]. Źródłem zmienności genetycznej mogą być leki, związki chemiczne używane do dezynfekcji, jak również czynniki wytwarzane przez komórki gospodarza, na które narażone są komórki *C. albicans* podczas infekcji. Dlatego jak najlepsze poznanie czynników modyfikujących zmienność chromosomową z uwzględnieniem ich mechanizmów działania na komórki *C. albicans* jest jednym z ważniejszych wyzwań współczesnej nauki, mającym duże znaczenie dla opracowania nowych strategii terapeutycznych.

Celem pracy doktorskiej była ocena roli nieenzymatycznych potranslacyjnych modyfikacji białek w promowaniu międzykomórkowej zmienności chromosomowej. W szczególności ocenie poddano znaczenie nieenzymatycznych potranslacyjnych modyfikacji białek w procesie chromosomowej heterogenizacji populacji starzejących się chronologicznie komórek *C. albicans*. W ramach pracy analizie poddano także właściwości klastogenne oraz aneugenne wybranych związków generujących określony typ stresu komórkowego takich jak: metyloglioksal, nadtlenuk wodoru, podchloryn sodu oraz donor tlenuk azotu - DPTA. Jak również flukonazol, lek najczęściej stosowany u ludzi podczas infekcji. Model badawczy stanowiły dwa szczepy referencyjne *C. albicans* (ATCC14053, SC5314) oraz 4 szczepy kliniczne *C. albicans* (302, T2, T6, T15). Na potrzeby badań opracowano nową innowacyjną metodę z zastosowaniem specyficznych oligonukleotydowych sond genetycznych malujących chromosomy, jako unikatowe narzędzie do badań zmienności międzykomórkowej na poziomie pojedynczej komórki.

Przeprowadzona charakterystyka genetyczna wybranych szczepów wykazała zmienność na poziomie wzorów kariotypowych i zawartości DNA w jądrze komórkowym *C. albicans*. Analizy dowiodły również, że badane szczepy charakteryzują się zmienną zdolnością do gromadzenia nieenzymatycznych potranslacyjnych modyfikacji białek (karbonylacji, glikacji, nitracji, chlorowania), jak również zależną od ploidalności zmiennością zaburzeń genomowych m.in. zaburzeń chromosomowych, pęknięć nici DNA, w tym tworzenia intermediat replikacyjnych. Przeprowadzone badania wykazały także, że częstość zmian chromosomowych oraz powstawanie nieenzymatycznych potranslacyjnych modyfikacji w komórkach *C. albicans* może ulegać zmianie zależnie od czasu hodowli (wieku chronologicznego komórek), a także od zastosowanego czynnika stresogennego. Zmiany w poziomie uszkodzeń DNA oraz białek przez czynniki endo- i egzogenne promują międzykomórkową zmienność oraz wpływają na zdolności adaptacyjne komórek w warunkach stresu, w tym działanie leków z grupy azoli.

Otrzymane wyniki wskazują na konieczność nowego racjonalnego podejścia terapeutycznego w walce z oportunistycznymi zakażeniami *C. albicans*, w tym zastosowania kombinowanej terapii w oparciu o łączone leki z grupy azoli ze związkami o charakterze senolityków. Wyniki potwierdzają również istnienie poważnego problemu związanego z szerokim i częstym stosowaniem związków przeciwgrzybiczych, w tym powierzchniowo czynnych jak podchloryn, woda utleniona, które poza działaniem cytotoksycznym mogą również promować zmienność międzykomórkową wśród *C. albicans*. Dodatkowo po raz pierwszy opracowane dedykowane sondy genetyczne *in situ* do badania chromosomów *C. albicans* na poziomie pojedynczych komórek zastosowane w pracy doktorskiej jako nowe narzędzie biotechnologii molekularnej, istotnie wzbogacają zakres dotychczasowych metodyk oraz technik badania genomu *C. albicans* na świecie.

Ewelina Kune