

**X Международный научно-практический Конгресс
«Мультидисциплинарный подход в гастроэнтерологии»**

**Преодоление кислотного стресса у дрожжей —
условие развития кишечного носительства**



*На заставке -
микроколонии
Candida albicans*

Северо-Западный
государственный
медицинский
университет им.
И.И. Мечникова

кафедра
медицинской
микробиологии



Голованова К.Г.
Рябинин И.А.

2026 г.

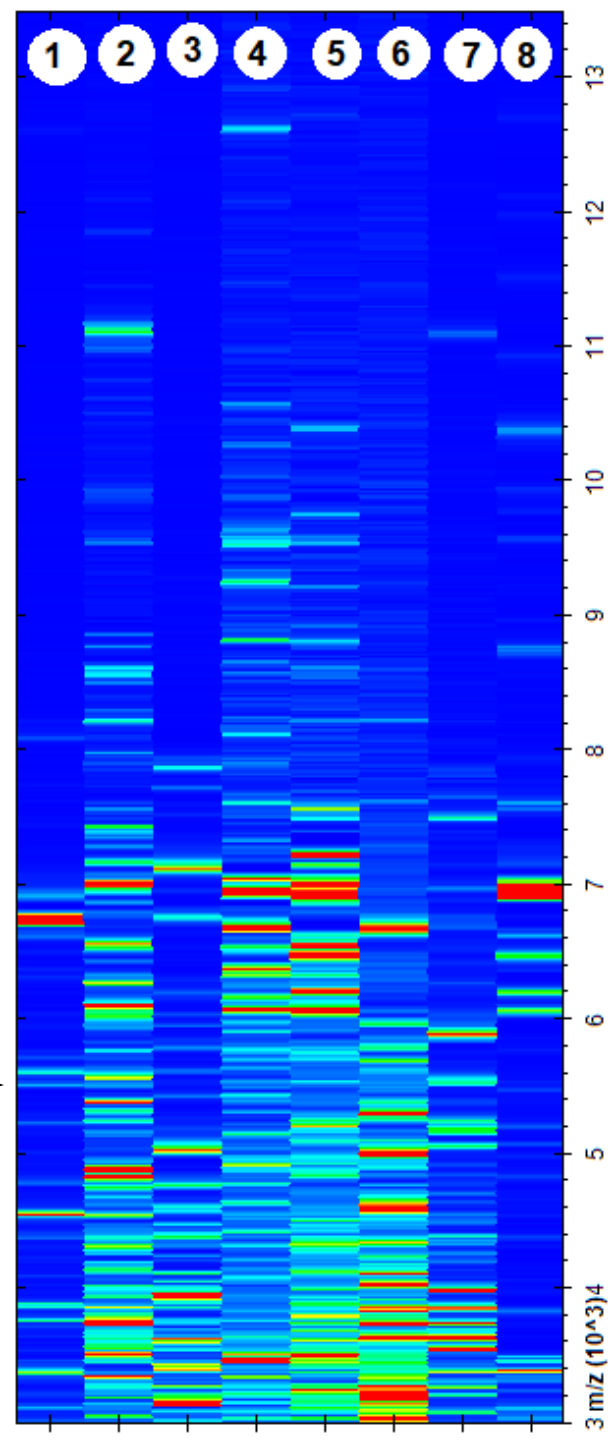
Актуальность темы. Цель исследования. Материалы и методы

В циркуляции «антропофильных» видов *Candida* spp. и родственных дрожжей обязательно происходит акт кишечного носительства. При действии различных факторов риска такое кишечное носительство может трансформироваться в гиперколонизацию различных сегментов пищеварительного тракта, а иногда даже – в развитие инвазивного кандидоза. Но на первом этапе для выживания дрожжевого организма требуются эффективные механизмы ответа на кислотный стресс для преодоления желудочного барьера, вплоть до длительной колонизации желудка у некоторых пациентов. Такие механизмы разнообразны, они включают продукцию аммония через дезаминирование аминокислот, ремоделирование клеточной стенки, активацию H⁺-АТФаз, но самым быстрым является электростатическое связывание ионов соляной кислоты белками дрожжей.

Цель – обнаружить спектрообразующие белки и пептиды дрожжей-аскомицетов, способные электростатически связывать соляную кислоту.

Материалы и методы. В анализ включили MALDI-масс-спектры видов *Meyerozyma guilliermondii* (1), *Kluyveromyces marxianus* (2), *Pichia kudriavzevii* (3), *Clavispora lusitaniae* (4), *Candida tropicalis* (5), *C. parapsilosis* (6), *Nakaseomyces glabratus* (7) и самого частого колонизатора желудочно-кишечного тракта – *C. albicans* (8). Номерами обозначены «полосы» масс-спектров на диаграмме «псевдогелей» (справа).

Оригинальные масс-спектры депонированы в масс-спектрометрическом банке НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, были сняты на инструменте Autoflex speed TOF/TOF в линейном режиме «MBT». Для реидентификации использовали П/О MALDI Biotyper OC v. 3.1 с базой данных «Bruker Taxonomy». Редакцию масс-спектров и поиск аддуктов выполнили в П/О flexAnalysis v. 3.4, режим аннотирования Common Neutral Losses.



Результаты исследования. Обнаружение HCl в качестве аддукта ионов

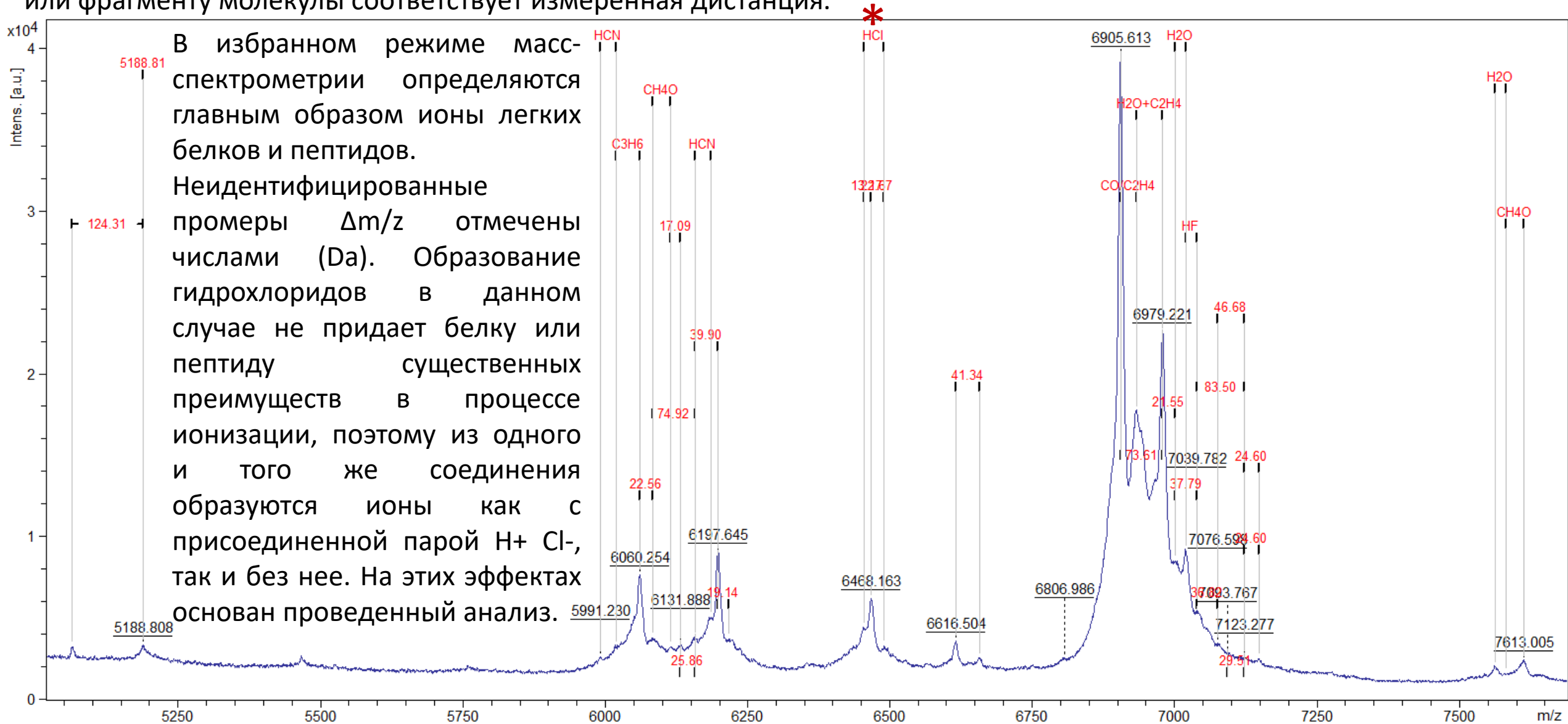
Таблица 1. Параметры ионов, присоединивших HCl

Вид микромицета	Дистанции, соответствующие парам ионов [M+H] ⁺ и [M+H+HCl] ⁺ , Mr (Da)
<i>Candida albicans</i>	6454 - 6590
<i>Nakaseomyces glabratus</i>	5220 - 5255
<i>Candida parapsilosis</i>	2991 - 3027
	4128 - 4164
<i>Candida tropicalis</i>	2124 – 2177
	2240 – 2276
	2461 - 2506
	6848 - 6884
<i>Clavispora lusitaniae</i>	2995 – 3031
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	2335 – 2371
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	6727 - 6763
	6907 – 6943
<i>Pichia kudriavzevii</i>	3388 – 3425
	3849 – 3885

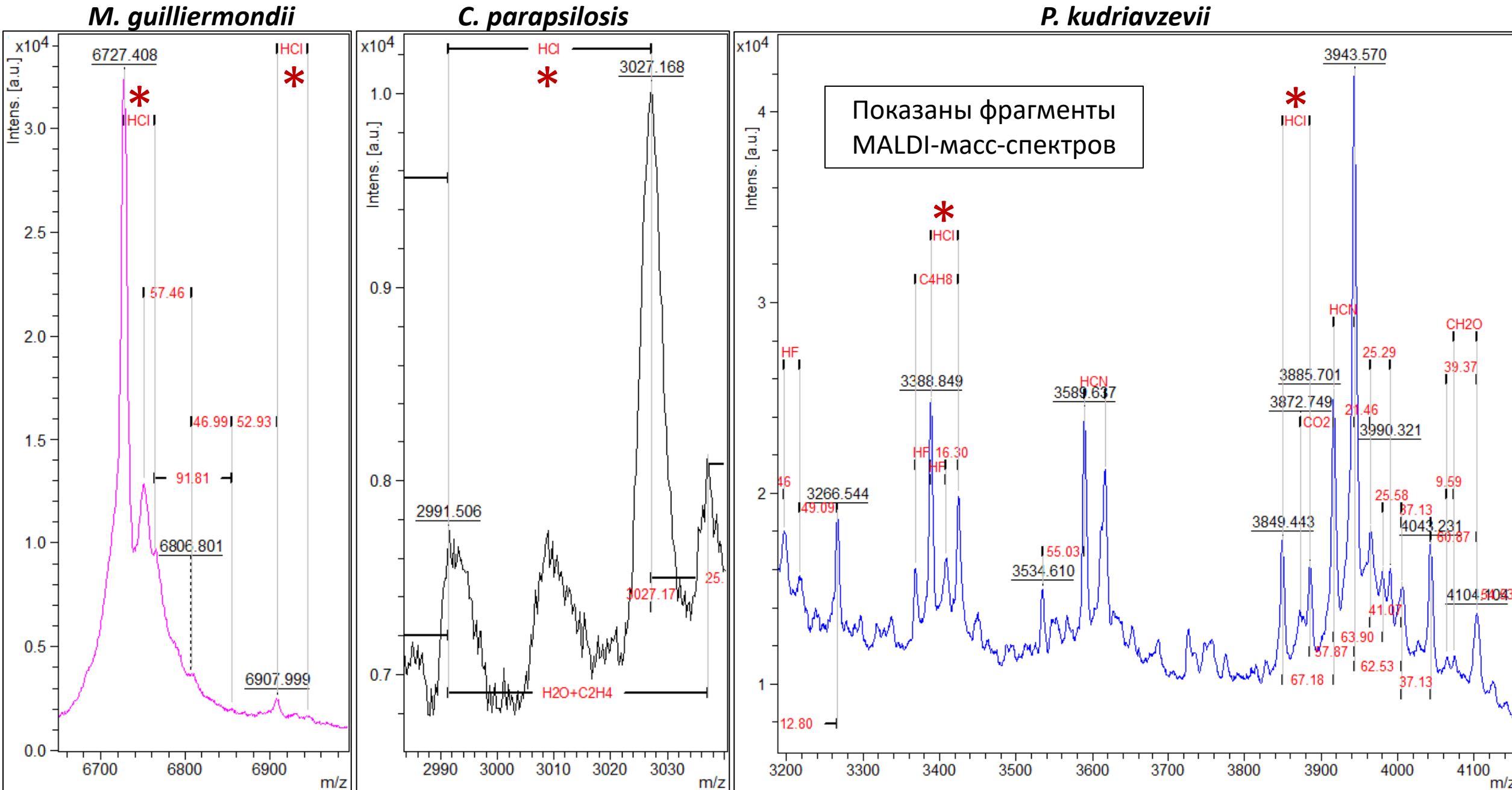
Автоматическая обработка масс-спектров с последующей редакцией оператором позволила обнаружить следующее количество пиков: *C. albicans* – 103; *C. parapsilosis* – 107; *C. tropicalis* – 135; *N. glabratus* – 83; *M. guilliermondii* – 84; *K. marxianus* – 114; *P. kudriavzevii* – 94; *C. lusitaniae* – 123. Всего в ходе исследования измерено 702 дистанции между пиками масс-спектров. Как оказалось, среди представителей всех изученных видов имеются белки и пептиды, связывающие соляную кислоту (Таблица 1). Другими наиболее частыми аддуктами ионов были C₂H₄, C₃H₆, C₄H₈, CH₂O, CH₄O, CO, CO₂, H₂O и H₂O+C₂H₄. В присоединении HCl к белкам и пептидам в MALDI-TOF-MS ключевое значение имеют остатки аминокислот лизина, аргинина или гистидина. При контакте с соляной кислотой боковые радикалы образуют гидрохлориды. В данном случае молекула белка или пептида не приобретает заряд, поэтому протонирование, необходимое для формирования иона, происходит с участием других аминокислот в тех же молекулах. Образование комплекса Prot•HCl происходит универсально *in vitro* и *in vivo*, поэтому можно утверждать, что обнаруженные ионы соответствуют белкам, задействованным в ответе на кислотный стресс.

Этап процесса аннотирования масс-спектра на примере *Candida albicans*

Программное обеспечение позволяет измерять дистанции в величинах отношения массы к заряду (m/z , обычно в избранном режиме съемки равна M_r , Da) между соседними пиками, а также идентифицировать, какому соединению или фрагменту молекулы соответствует измеренная дистанция.

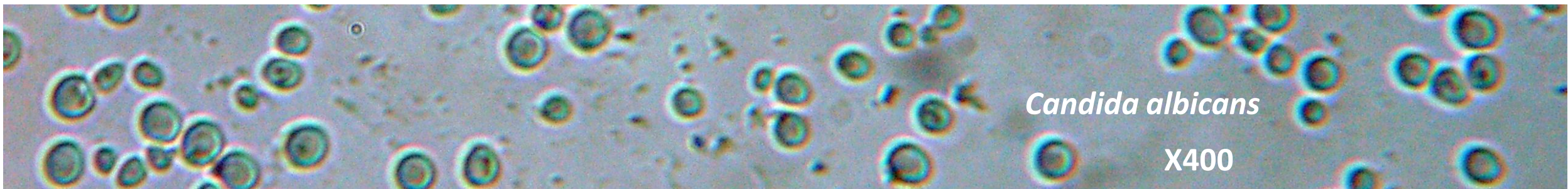


Искомые результаты аннотирования – обнаружение HCl (*) в качестве аддукта



Заключение

Адаптация к кислотному стрессу у *Candida* spp. и родственных дрожжей является не только фактором колонизации организма человека. Как оказалось, кислотный стресс является триггером для реализации некоторых факторов вирулентности этих микромицетов. Так, именно при сниженной pH у *C. albicans* оптимально работают главные гидролитические ферменты инвазии – аспартиловые протеазы, фосфолипазы и эстеразы [Talapko J., et al., 2021]. Длительный кислотный стресс приводит к ремоделированию компонентного состава клеточной стенки гриба, в результате для клеток иммунной кооперации становятся доступны соединения – стимулы провоспалительного ответа [Sherrington S. et al., 2017]. В ответ на кислотный стресс перекрестно повышается устойчивость к стрессу осмотическому и окислительному [Cottier F. et al., 2015]. Кроме того, ответ на кислотный стресс задействует некоторые механизмы, работающие у дрожжей в процессах резистентности и толерантности к противогрибковым препаратам. Работы, подтверждающие данное положение, не столь многочисленны, но для одного из ведущих дрожжевых патогенов *N. glabratus* уже установлено, что при инкубации в среде со сниженной pH возрастают минимальные ингибирующие концентрации полиенов и триазолов [Danby C.S. et al., 2012]. **Таким образом, изучение кислотного стресса у дрожжей, колонизирующих тело человека, должно находится на острие внимания не только микробиологов, но и различных специалистов клинической медицины.**



Работа выполнена в рамках Государственного задания Минздрава России №124021400014-5 «Геномная эпидемиология множественно- и экстремально-устойчивых к антимикробным препаратам бактериальных и грибковых возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи»