

Señalización en *Candida albicans* y mecanismos de adaptación al estado comensal

Daniel Prieto, Susana Hidalgo, Elvira Román, Rebeca Alonso y Jesús Pla



Departamento de Microbiología y Parasitología, IRYCIS, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Ramón y Cajal s/n 28040 Madrid, España



Nuestro grupo trabaja desde hace muchos años en (y con) una levadura patógena oportunista del ser humano, *Candida albicans*. Se trata de un hongo que forma parte de nuestra microbiota intestinal (y vaginal) sin producirnos aparentemente daño en individuos sanos. Cuando se producen alteraciones inmunológicas en el huésped, se utilizan antibióticos de amplio espectro, se sufre diabetes o existen determinadas alteraciones genéticas se favorece la aparición de las denominadas candidiasis, que suelen ser superficiales, mucocutáneas o en los casos más graves, sistémicas. En mujeres, producen vulvovaginitis, que puede ser recurrente y son un serio problema. Aunque las infecciones causadas por este hongo no son tan frecuentes como otras infecciones víricas o bacterianas, son muy graves y requieren casi siempre terapia antifúngica. Esta tera-

pia es escasa en número, los antifúngicos pueden tener limitaciones farmacocinéticas, de espectro o económicas y ello puede verse agravado en los próximos años con la aparición de resistencias frente a algunos usados en clínica. *C. albicans* es el hongo que se aísla con mayor frecuencia en infecciones sistémica nosocomiales.

Aunque las razones de nuestro interés en este hongo son, en buena medida, fortuitas, en nuestro grupo siempre hemos intentado usar este microorganismo fascinante para hacernos (e intentar responder) preguntas cada vez más complejas. En ese sentido, podemos estar contentos con el organismo con el que llevamos décadas trabajando, pues esta levadura no para de surtirnos de ellas. Lo de plantear respuestas también nos entusiasma, por supuesto, aunque ello conlle-

ve lidiar con multitud de parámetros variables (y no solo de naturaleza biológica).

Experimentar con este hongo supone convivir con sus aparentes contradicciones. Se trata de un microbio que crece bien en el laboratorio, pero alterna distintas morfologías en el curso de la infección y cada una contribuye de forma diferente al proceso infeccioso, aunque no se conoce con total detalle. Se trata de un organismo diploide sin ciclo sexual completo, lo que dificulta la producción de mutantes en el laboratorio y ha habido que dedicar mucho esfuerzo por parte de nuestro grupo y otros para implementar mejoras en las estrategias de su manipulación genética. Aunque este hongo en algún momento de la evolución perdió la capacidad de llevar a cabo la meiosis, presenta mecanismos alternativos muy interesantes y complejos de generar variabilidad genética.

El eje del trabajo de nuestro grupo durante años ha sido el estudio de las rutas de señalización mediadas por quinasas de tipo MAP (MAPKs) en este hongo. Este tipo de rutas median respuestas frente a ciertos estímulos como diversos tipos de estrés, alteraciones en la pared celular fúngica, moléculas de *quorum sensing*, etc. Tras la activación por fosforilación secuencial de distintos elementos de las rutas (a veces interconectadas), la MAPK puede translocarse al núcleo desencadenando una activación/represión transcripcional en genes concretos que permite a la célula compensar o adaptarse de forma específica a los cambios que dieron lugar al estímulo inicial. Sin embargo, una sobreactivación suele implicar toxicidad, por lo que la señalización está sometida a una regulación estricta. Su relativa cercanía evolutiva con *Saccharomyces cerevisiae* nos ha permitido identificar y estudiar la mayor parte de los componentes de estas rutas. Hemos puesto de manifiesto el papel de algunas de estas quinasas en la respuesta al daño oxidativo, en la construcción de la pared celular, en los cambios morfológicos que se producen durante la infección y en la interacción con el sistema inmunológico. No es de extrañar, por ello, que estas rutas sean importantes factores de patogenicidad (si tiene algún sentido este concepto en un patógeno oportunista) y sean dianas terapéuticas en que basar el diseño de nuevos antifúngicos.

Parte de nuestro esfuerzo inicial consistió en el desarrollo de sistemas de manipulación genética (aislamiento de replicones, esquemas de delección, sistemas de expresión) que permitieran poder trabajar con este hongo. Más recientemente, hemos usado la metodología CRISPR como sistema de regulación de expresión genética en esta levadura. Aunque la manipulación genética de *C. albicans* ha sido una ocupación constante y necesaria en nuestro grupo, nos hemos ido orientado siempre hacia el estudio de la interacción con

el hospedador. Ello ha supuesto usar modelos celulares, principalmente de la inmunidad innata (barreras, macrófagos, neutrófilos) y con modelos animales (ratón) cuya puesta a punto y análisis han ocupado gran parte de nuestra capacidad científica de los últimos años. Hemos profundizado no solo en el proceso infeccioso (modelos celulares y virulencia sistémica en ratón), sino también hemos implementado modelos de comensalismo, como es la colonización gastrointestinal. Esta última aproximación nos parece especialmente relevante por varios motivos: durante muchos años ha sido poco estudiada, es una etapa de interacción con mayor prevalencia y más prolongada en el tiempo, permite analizar el papel de la microbiota y usa modelos animales poco invasivos y sin generar sufrimiento. Gracias a ello estamos empezando a conocer qué genes son responsables de la colonización intestinal, que papel juegan ciertos factores (oxígeno, sales biliares, adhesión) en la colonización. Como dos no discuten si uno no quiere, también hemos abordado el estudio de factores del hospedador que intervienen en la patogenicidad de este hongo, del hospedador y hemos contribuido a conocer el papel de algunas poblaciones inmunitarias (CX3CR1+ intestinales) y receptores (TLR2/MyD88, Gal3, Dectin 1) en el control de la infección fúngica.

Las preguntas que nos hacemos en la actualidad en el grupo son muy diversas y complejas a pesar de su aparente sencillez. ¿Influye la adhesión en la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal de esta levadura? ¿Y la capacidad de filamentar? ¿En qué procesos están implicadas las MAPK durante el curso de la infección? ¿Es el apareamiento *in vivo* (es decir, en el curso de una infección o durante la colonización) posible? ¿Si es así, en qué condiciones y qué ventajas tendría para la levadura? ¿Podemos desarrollar cepas con mayor o menor capacidad de colonización? ¿Podríamos usar esas cepas de *C. albicans*

como vehículo de antígenos para la prevención de enfermedades humanas? Y por último ¿por qué estamos colonizados por esta levadura? Si en el curso de la coevolución entre el ser humano y *C. albicans* durante miles de años seguimos colonizados ¿qué ventajas nos aporta?

Nuestra línea consta de 5 profesores permanentes (D.P, E.R., R.A. y J.P), 2 investigadores predoctorales (S.H. e Isabel Cortés) y 1 técnico (Ioana Comán), además de 3-4 estudiantes de máster o de últimos cursos de grado que acogemos puntualmente cada curso.

Entre los grupos de investigación con que mantenemos frecuentes colaboraciones científicas con los siguientes: Dr. Oscar Zaragoza. Centro Nacional de Microbiología. Instituto Carlos III, Dr. B. Hube, Dept. of Microbial Pathogenicity Mechanisms, Hans-Knoell-Institute, Jena, Alemania, Dr. Christophe d'Enfert (Institute Pasteur, París), Dr. Ilian Iliiev (Cornell University, New York), Dr. S. Panwar, Jawaharlal Nehru University, Nueva Delhi.

REFERENCIAS DESTACADAS RECIENTES

- Román E, Coman I, Prieto D, Alonso-Monge R, Pla J.** Implementation of a CRISPR-Based System for Gene Regulation in *Candida albicans*. *mSphere*. 2019;4(1).
- Leonardi I, Li X, Semon A, Li D, Doron I, Putzel G, et al.** CX3CR1(+) mononuclear phagocytes control immunity to intestinal fungi. *Science*. 2018;359(6372):232-6.
- Prieto D, Román E, Alonso-Monge R, Pla J.** Overexpression of the Transcriptional Regulator WOR1 Increases Susceptibility to Bile Salts and Adhesion to the Mouse Gut Mucosa in *Candida albicans*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:389.
- Román E, Correia I, Salazin A, Fradin C, Jouault T, Poulain D, et al.** The Cek1-mediated MAP kinase pathway regulates exposure of α -(1,2) and β -(1,2)-mannosides in the cell wall of *Candida albicans* modulating immune recognition. *Virulence*. 2016;7(5):558-77.
- Correia I, Alonso-Monge R, Pla J.** The Hog1 MAP Kinase Promotes the Recovery from Cell Cycle Arrest Induced by Hydrogen Peroxide in *Candida albicans*. *Front Microbiol*. 2016;7:2133.