

Grupo de inmunología de las infecciones fúngicas

María Luisa Gil y Daniel Gozalbo

Departamento de Microbiología y Ecología de la Universitat de València

m.luisa.gil@uv.es



Foto de grupo. De izquierda a derecha. Pedro Salvador, María Luisa Gil, Daniel Gozalbo, Javier Megías y Victoria Maneu.

El grupo de investigación dirigido por los doctores María Luisa Gil y Daniel Gozalbo, denominado «Inmunología de las infecciones fúngicas», ha centrado su investigación, durante la última década, en el estudio de la respuesta inmunitaria del hospedador frente a *Candida albicans*. Esta especie fúngica es considerada un patógeno oportunista que, dependiendo del defecto subyacente del hospedador, es capaz de causar una variedad de infecciones que van desde las candidiasis superficiales cutáneas a graves candidiasis invasivas. La frecuencia y gravedad de éstas últimas ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, debido al aumento de la población de riesgo inmunodeprimida o debilitada por diferentes causas.

El sistema inmunitario innato reconoce un amplio rango de patógenos usando un repertorio limitado de receptores, los «pattern recognition receptors» (PRRs). La interacción entre ligandos microbianos muy conservados (MAMPs: «microorganism-associated molecular patterns») y los PRRs de las células inmunitarias maduras tiene una función esencial en el desarrollo de la respuesta innata y también de la

respuesta específica. Los neutrófilos y los macrófagos eliminan al patógeno por fagocitosis y además, la activación de los macrófagos da lugar a la secreción de diferentes mediadores, como las citocinas proinflamatorias, que son muy importantes para proteger al hospedador de las candidiasis diseminadas. Las células fagocíticas reconocen al patógeno mediante diversos PRRs, incluyendo los receptores tipo Toll (TLRs), que reconocen diversos MAMPs de *C. albicans*. Nuestro grupo ha mostrado que el receptor TLR2 está implicado en el reconocimiento de *C. albicans*, tanto levaduras como hifas, induciendo la secreción de citocinas a través de una vía dependiente de la molécula adaptadora MyD88. Dicho reconocimiento es crítico para la protección frente a la candidiasis invasiva en modelo de experimentación animal.

Por otro lado, una respuesta rápida del sistema inmunitario innato frente a los patógenos invasivos es esencial para el hospedador. Dado que las células responsables de la inmunidad innata tienen una vida media corta, el reaprovisionamiento de estas células es fundamental en homeostasis y especialmente importante durante la infección (para reempla-

zar las células consumidas en la lucha frente al microorganismo y para incrementar la vigilancia del sistema inmunitario). La hematopoyesis está muy controlada en condiciones de homeostasis, pero profundamente alterada en respuesta a diferentes tipos de infecciones, donde normalmente se produce la denominada mielopoyesis de emergencia, que consiste en la producción de neutrófilos, macrófagos o ambos tipos celulares, dependiendo del patógeno y/o de la severidad de la infección. A pesar de que se ha descrito la participación de diferentes citocinas y factores de transcripción en la mielopoyesis de emergencia, los mecanismos moleculares implicados en este fenómeno no han sido totalmente definidos.

El descubrimiento de que las células madre y progenitores hematopoyéticos (HSPCs) expresan los TLRs abrió un nuevo campo de estudio en la interacción patógeno-hospedador, ya que estos receptores podrían participar en la modulación de la hematopoyesis en respuesta a los microorganismos durante una infección. Nuestro grupo ha demostrado que *C. albicans* induce *in vitro* la proliferación y diferenciación de las HSPCs de ratón hacia el linaje mielóide, por una vía dependiente de TLR2. Además, recientemente hemos demostrado, utilizando un modelo murino de trasplante de HSPCs, que la estimulación vía TLRs de las HSPCs ocurre *in vivo* y que dicha señalización induce la diferenciación hacia macrófagos, tanto en respuesta a ligandos puros como en respuesta a la infección por *C. albicans*. Estos resultados sugieren que los patógenos pueden ser directamente reconocidos por las HSPCs a través de los PRRs, promoviendo así la capacidad de reaprovisionamiento del sistema inmunitario innato durante una infección. El encuentro entre las HSPCs y los microorganismos (o sus ligandos) podría tener lugar tanto en la médula ósea como en los tejidos infectados, donde podrían llegar las células progenitoras, tal como se ha demostrado en diferentes modelos. En los tejidos infectados los microorganismos podrían inducir la diferenciación de estas células madre migratorias por hematopoyesis extramedular.

Actualmente, el objetivo concreto de la investigación del grupo es caracterizar el fenotipo de los macrófagos generados a partir de las HSPCs en respuesta a ligandos de diferentes PRRs mediante ensayos *in vitro*, *ex vivo* y con un modelo de trasplante de HSPCs *in vivo*. La caracterización funcional de estos macrófagos permitirá determinar si la señalización vía TLRs genera macrófagos más preparados para la lucha frente al patógeno, o si por el contrario, son macrófagos con menor capacidad antifúngica, y por lo tanto tratarse de un posible mecanismo de evasión inmunitaria.

Los resultados ya obtenidos, junto con las perspectivas futuras, pueden ser de gran interés en este área frontera entre la Inmunología y la Microbiología, ya que demuestran (i) la existencia de nuevos mecanismos en la interacción hospedador-patógeno y sus consecuencias en la modulación de la respuesta inmunitaria durante la infección, lo cual puede representar una nueva diana para la intervención frente a las infecciones graves, así como (ii) posibles dianas de intervención terapéutica centradas en la utilización de agonistas de los PRRs, y TLRs en particular, para inducir la proliferación y/o diferenciación de células madre hacia fenotipos particulares de células maduras.

Durante los últimos años nuestro grupo está colaborando con otros grupos de investigación que tienen intereses científicos comunes, entre los que cabe destacar los siguientes:

- **JE O'Connor** (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universitat de València)
- **Jesús Pla** (Departamento de Microbiología II, Universidad Complutense de Madrid)
- **Thierry Jouault** (Université de Lille Nord de France, INSERM U995)
- **Nicolás Cuenca** (Departamento de Óptica, Farmacología y Anatomía, Universidad de Alicante)
- **Helen Goodridge** (Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA)

PUBLICACIONES RELEVANTES EN LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS

- Gozalbo D and Gil ML.** (2009) IFN-gamma in *Candida albicans* infections. *Front Biosci* 14: 1970-1978.
- Gil ML and Gozalbo D.** (2009) Role of Toll-like receptors in systemic *Candida albicans* infections. *Front Biosci* 14: 570-582.
- Yáñez A, Murciano C, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2009) *Candida albicans* triggers proliferation and differentiation of hematopoietic stem and progenitor cells by a MyD88-dependent signaling. *Microbes Infect* 11: 531-535.
- Yáñez A, Flores A, Murciano C, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2010) Signalling through TLR2/MyD88 induces differentiation of murine bone marrow stem and progenitor cells to functional phagocytes in response to *Candida albicans*. *Cell Microbiol* 12: 114-128.
- Yáñez A, Megías J, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2011) *Candida albicans* induces selective development of macrophages and monocyte derived dendritic cells by a TLR2 dependent signalling. *PLoS One* 6(9) e24761.
- Maneu V, Yáñez A, Murciano C, Molina A, Gil ML and Gozalbo D.** (2011) Dectin-1 mediates *in vitro* phagocytosis of *Candida albicans* yeast cells by retinal microglia. *FEMS Immunol Med Microbiol* 63:148-150.
- Megías J, Yáñez A, Moriano S, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2012) Direct Toll-like receptor-mediated stimulation of hematopoietic stem and progenitor cells occurs *in vivo* and promotes differentiation toward macrophages. *Stem Cells* 30: 1486-1495.
- Megías J, Maneu V, Salvador P, Gozalbo D and Gil ML.** (2012) *Candida albicans* stimulates *in vivo* differentiation of haematopoietic stem and progenitor cells towards macrophages by a TLR2-dependent signalling. *Cell Microbiol* 15: 1143-1153.
- Yáñez A, Goodridge HS, Gozalbo D and Gil ML.** (2013) TLRs control hematopoiesis during infection. *Eur J Immunol* 43: 2526-2533.
- Gómez-Vicente V, Flores A, Lax P, Murciano C, Yáñez A, Gil ML, Cuenca N, Gozalbo D and Maneu V.** (2013) Characterization of a new murine retinal cell line (MU-PH1) with glial, progenitor and photoreceptor characteristics. *Exp Eye Res.* 110:125-135.
- Yáñez A, Hassanzadeh-Kiabi N, Ng MY, Megías J, Subramanian A, Liu GY, Underhill DM, Gil ML and Goodridge HS.** (2013) Detection of a TLR2 agonist by hematopoietic stem and progenitor cells impacts the function of the macrophages they produce. *Eur J Immunol* 43: 2114-2125.
- Maneu V, Estévez MA, de Dios S, Gozalbo D, Gil ML and Megías J.** (2014). *In vitro* differentiation of murine hematopoietic progenitor cells toward the myeloid lineage occurs in response to *Staphylococcus aureus* and yeast species. *Microbial Pathogenesis*, in press.
- Gozalbo D, Maneu V, and Gil ML.** (2014) Role of IFN-gamma in immune responses to *Candida albicans* infections. *Front Biosci* 2014, 69: 9-12.