

Micología Molecular en la Universidad de Castilla-La Mancha: la pared celular de *Candida* como diana para el desarrollo de nuevas estrategias antifúngicas

María Alvarado, Jordan Fernández-Pereira, Joaquín Bartolomé,
Ana C. Sánchez Montero y Piet W.J. de Groot



Laboratorio de Micología Molecular, Centro Regional de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Castilla-La Mancha, Parque Científico y Tecnológico de Castilla-La Mancha, Calle Almansa 14, 02008, Albacete.



De izquierda a derecha: Ana Sánchez Montero, María Alvarado González, Jordan Fernández Pereira y Piet de Groot.

Nuestro laboratorio de Micología Molecular de la Universidad de Castilla-La Mancha en Albacete liderado por el Dr. Piet de Groot estudia el papel de la pared celular de *Candida* en los procesos moleculares que provocan el establecimiento de las infecciones fúngicas. Las especies del género *Candida* son un grupo de hongos patógenos oportunistas que causan infecciones de la piel y de la mucosa, así como infecciones invasivas en pacientes inmunocomprometidos. Las infecciones diseminadas son difíciles de tratar y diagnosticar y ponen en peligro la vida del paciente. Estudios epidemiológicos de la población española afectada por infecciones diseminadas

producidas por *Candida* han descrito una incidencia anual de alrededor 8 casos/100.000 habitantes con una mortalidad del 30%. El tratamiento quimioterápico en cáncer, inmunosupresión en trasplantados, el tratamiento de enfermos críticos en las unidades de cuidados intensivos (UCI), la emergencia de la pandemia de SIDA, y el envejecimiento de la población han contribuido a aumentar la población susceptible de adquirir infecciones fúngicas.

El agente causal número uno de candidiasis en humanos es *C. albicans*. Sin embargo, en los últimos años se ha observado un aumento

de las infecciones causadas por otras especies como *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis*. *Candida auris* es una levadura emergente multirresistente que se identificó por primera vez en 2009 y que está siendo reconocida con una incidencia en rápido aumento como la causa de infecciones letales adquiridas en las UCIs en hospitales de todo el mundo incluyendo España. Los elevados costes derivados de la prevención, diagnóstico y tratamiento de micosis invasivas y el limitado repertorio actual de fármacos disponibles también requieren una investigación urgente para establecer nuevas estrategias terapéuticas antifúngicas.

PRINCIPALES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Identificación y caracterización de adhesinas de pared celular en *Candida glabrata*.

Las infecciones causadas por *C. glabrata* son difíciles de tratar porque la levadura tiene una alta resistencia intrínseca a compuestos antifúngicos frecuentemente usados como los azoles. Mientras que en *C. albicans* el cambio de la morfología entre la forma levadura y la de hifas se considera un factor crucial de virulencia, *C. glabrata* crece estrictamente como levadura. Estudios genómicos previos en nuestro laboratorio revelaron que *C. glabrata* contiene un número extraordinariamente aumentado de proteínas de pared celular (CWP, cell wall proteins) con potenciales funciones como adhesinas. Se supone que estas adhesinas están involucradas en la formación de biopelículas en tejidos humanos y/o superficies abióticas médicamente relevantes. Mediante la realización de análisis proteómicos de la pared celular de cepas de *C. glabrata* hiperadhesivas, hemos identificado varias nuevas adhesinas. En nuestro laboratorio se está llevando a cabo estudios genéticos para la caracterización fenotípica de estas nuevas adhesinas.

ANÁLISIS DE LA PARED CELULAR DEL PATÓGENO EMERGENTE *CANDIDA AURIS*

En un proyecto que es una colaboración con la Universidad del País Vasco y la Uni-

versidad de Valencia, estudiamos la pared celular del patógeno emergente multirresistente *Candida auris*. Enfocando en aspectos de pared celular, estudiamos en el proyecto diferencias entre cepas clínicas de *C. auris*, e identificamos los CWPs a través de aproximaciones proteómicas (espectrometría de masas) y bioinformáticas. Debido a ser recién descubierto como nueva especie, uno de los problemas de infecciones causadas por *C. auris* es su correcta identificación a nivel de especie que puede obstaculizar un tratamiento adecuado y oportuno. Como inicio de este proyecto, empleando un estudio bioinformático, hemos identificado algunos genes que codifican CWPs con anclajes de glycosylphosphatidylinositol (GPI) que parecen ser únicos para *C. auris* y no tienen homólogos en las bases de datos de genes o proteínas públicas. Por lo tanto, estos genes pueden servir como marcadores moleculares para la identificación específica y rápida por PCR de infecciones causadas por *C. auris*, algo que hemos probado con éxito utilizando aislados de *C. auris* genéticamente diversos procedentes de seis países de tres diferentes continentes, así como otras especies de *Candida* como controles negativos. En la siguiente fase del proyecto, las CWPs más interesantes identificadas en condiciones relevantes para la infección son los objetivos de los estudios de caracterización fenotípica para lo cual generamos mutantes de delección mediante la aplicación de la metodología CRISPR-Cas9. Con los mutantes obtenidos analizaremos su papel en la formación de

biopelículas, la resistencia a fármacos antifúngicos y la virulencia.

Los estudios en nuestro laboratorio de Micología Molecular se llevan a cabo en colaboración con varios grupos como los de Drs. G. Quindós y E. Eraso (Universidad del País Vasco, Bilbao), Dr. E. Valentín (Universidad de Valencia), Dr. J. Pemán (Hospital La Fe, Valencia), Drs. U. Groß y O. Bader (Göttingen University, Alemania), Dr. L. Essen (Marburg University, Alemania) y Dr. C. de Koster (Universidad de Amsterdam, Holanda), entre otras.

REFERENCIAS

- Cabello L, Gómez-Herreros E, Fernández-Pereira J, Maicas S, Martínez-Esparza MC, De Groot PWJ, Valentín E. (2019). Deletion of GLX3 in *Candida albicans* affects temperature tolerance, biofilm formation and virulence. *FEMS Yeast Res.* 19: doi: 10.1093/femsyr/foy124.
- De Groot PWJ, Bader O, De Boer AD, Weig M, Chauhan N. (2013). Adhesins in human fungal pathogens: glue with plenty of stick. *Eukaryot. Cell* 12: 470-481.
- Gómez-Molero E, De Boer AD, Dekker HL, Moreno-Martínez A, Kraneveld EA, Ichsan, Chauhan N, Weig M, De Soet JJ, De Koster CG, Bader O, De Groot PWJ. (2015). Proteomic analysis of hyperadhesive *Candida glabrata* clinical isolates reveals a core wall proteome and differential incorporation of adhesins. *FEMS Yeast Res.* 15: pii: fov098.
- Ruiz-Gaitán AC, Fernández-Pereira J, Valentín E, Tormo-Mas MA, Eraso E, Pemán J, de Groot PWJ. (2018). Molecular identification of *Candida auris* by PCR amplification of species-specific GPI protein-encoding genes. *Int J Med Microbiol.* 308:812-818.

Coloquio, by Víctor.

