

# Interacciones huésped-parásito en infecciones neumocócicas

Pedro García y Jesús Miguel Sanz

Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas. Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid

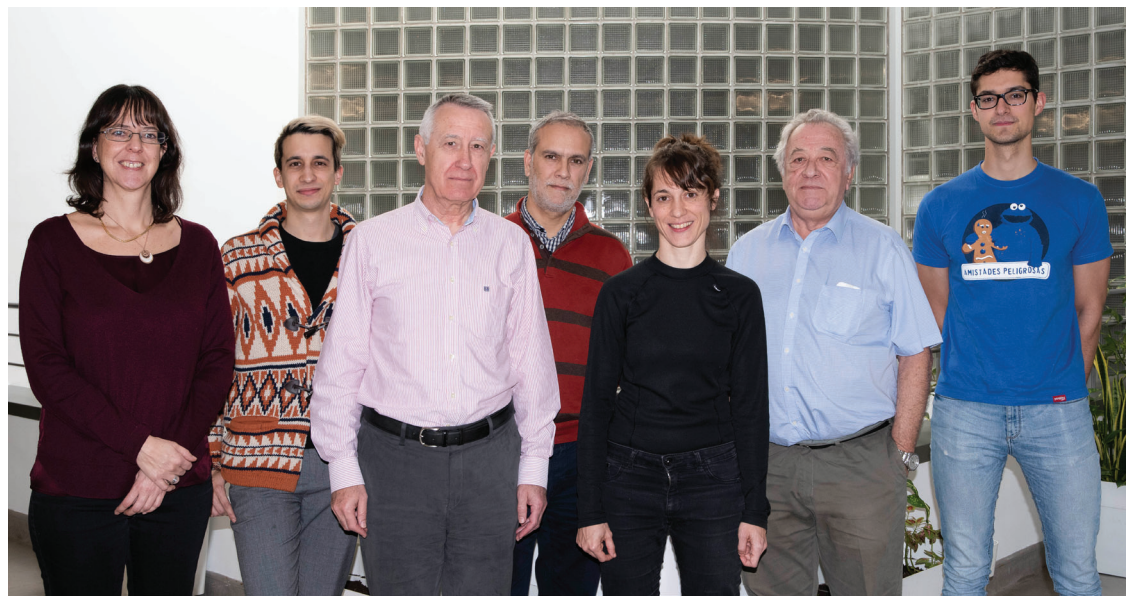
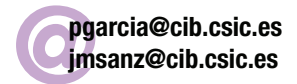


Foto de grupo. De izquierda a derecha: Beatriz Maestro, Roberto Vázquez, Pedro García, Jesús Sanz, Susana Ruiz, Ernesto García, Víctor Fuentes.

Las actividades de nuestro laboratorio han aparecido dos veces en pasadas ediciones de esta publicación, por la doble pertenencia a dos grupos: inicialmente en junio de 2013 en el número de "Biología de los microorganismos patógenos" ([https://www.semicrobiologia.org/storage/secciones/publicaciones/semaforo/55/articulos/21\\_BMP\\_55\\_Garcia.pdf](https://www.semicrobiologia.org/storage/secciones/publicaciones/semaforo/55/articulos/21_BMP_55_Garcia.pdf)) y, posteriormente, en diciembre de 2014 en el especial de "Microbiología Molecular" ([https://www.semicrobiologia.org/storage/secciones/publicaciones/semaforo/58/articulos/43\\_MM22\\_PGarcia.pdf](https://www.semicrobiologia.org/storage/secciones/publicaciones/semaforo/58/articulos/43_MM22_PGarcia.pdf)). Desde entonces, el número de contratados pre- y posdoctorales se ha reducido y, además, se ha producido la jubilación de nuestro jefe Ernesto García, que ha pasado a ser Profesor emérito pero que sigue siendo una pieza clave en nuestro desarrollo científico. Por otro lado, se ha incorporado recientemente el grupo del Dr. Jesús M. Sanz que potencia y complementa nuestras líneas de investigación. El grupo

pertenece al CIBERES (CIBER de Enfermedades Respiratorias), con lo que el foco principal de nuestras investigaciones se centra en el estudio de compuestos antibacterianos contra diferentes patógenos causantes de enfermedades respiratorias. Tradicionalmente, el objetivo de nuestros proyectos ha sido la bacteria *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), habiendo abordado distintos temas: a) análisis estructural y funcional de las CBPs (*choline-binding proteins*), tanto codificadas por la bacteria como por los fagos que la infectan; b) factores de patogenicidad, especialmente los distintos tipos capsulares que son fácilmente intercambiables entre distintas cepas por transformación genética; c) la formación de biofilms y los factores que favorecen este tipo de crecimiento y, d) la utilización de las enzimas líticas fágicas, también denominadas endolisinas o enzimbóticos, como agentes bactericidas con gran especificidad.

En la actualidad, las líneas fundamentales del laboratorio convergen en la utilización de técnicas de estructura e ingeniería de proteínas para la búsqueda y caracterización de nuevos compuestos antibacterianos que constituyan tratamientos alternativos contra patógenos resistentes a varios antibióticos. La naturaleza molecular de tales compuestos es amplia, incluyendo desde moléculas orgánicas pequeñas hasta enzimas completas (enzimbóticos), y cuyas dianas también son variadas (membrana o pared celulares), aunque siempre localizadas en la superficie bacteriana.

En los últimos años hemos desarrollado pequeños compuestos orgánicos (ésteres de aminas bicíclicas o EBAs) que perturban la membrana celular y poseen efecto lítico tanto en patógenos respiratorios Gram-negativos (*Pseudomonas aeruginosa* y *Haemophilus influenzae*) como Gram-positivos (*S.*

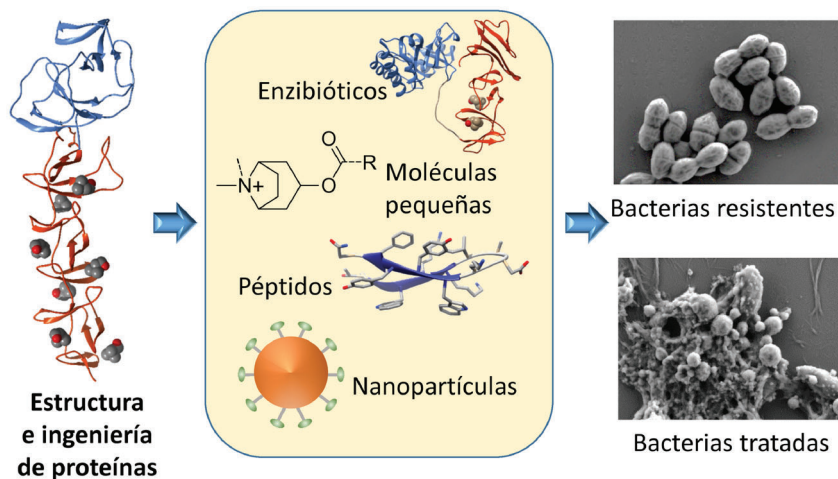


Figura. Resumen esquemático de los objetivos científicos del grupo.

*pneumoniae*), y son activos tanto en cultivo planctónico como en biofilms, habiéndose comprobado su eficacia frente a cepas neumocócicas resistentes en modelos de pez cebra. Asimismo, también investigamos efectos similares producidos por pequeños péptidos ("choline-binding repeats" o CBRs). En ambos casos, el efecto bactericida se ve incrementado exponencialmente por la disposición multivalente de varias copias de estos compuestos en nanopartículas dendríméricas. Por otro lado, las endolisinas son enzimas codificadas por fagos cuya función es hidrolizar el peptidoglicano de la bacteria hospedadora y terminar el ciclo lítico diseminando nuevos viriones. En los últimos años se ha descrito el uso de una gran variedad de endolisinas contra muchos patógenos bacterianos, lo que constituye una gran esperanza en su futura aplicación clínica ya que presentan varias ventajas frente a los antibióticos. Entre ellas se pueden citar: a) son muy específicas; b) no se han descrito bacterias resistentes frente a estas enzimas, probablemente porque su diana (el peptidoglicano) es una estructura muy conservada entre las bacterias; c) por la misma razón, son igualmente efectivas contra cepas multirresistentes; d) tienen también actividad bactericida frente a bacterias que forman biofilms que son, generalmente, refractarias a los antibióticos y, e) son eficaces en todo tipo de estado metabólico bacteriano. Teniendo en cuenta además los numerosos artículos que se están publicando en los últimos años, es

evidente que estos antibacterianos constituyen una prometedora alternativa para luchar contra la gran amenaza de los patógenos multirresistentes.

Además, hemos construido las enzimas quiméricas más potentes contra neumococo (Cpl-711 y PL3), estrictamente específicas contra esta bacteria, pero también hemos caracterizado otras endolisinas con un rango de huésped más amplio, como Cpl-7S y Csl2. Asimismo, hemos comprobado su acción sinérgica con determinados antibióticos, o también entre dos enzibióticos que rompen diferentes enlaces. Todas estas enzimas han demostrado ser muy eficaces contra bacterias susceptibles que forman biofilms y se han validado en modelos animales, como ratones o peces cebra. Además, estamos estudiando nuevas endolisinas contra patógenos Gram-negativos, como *P. aeruginosa* y *H. influenzae*.

En la actualidad también investigamos de manera alternativa compuestos que provoquen un efecto no lítico sobre las bacterias, de forma que se evite la liberación de toxinas y factores inflamatorios al medio al mismo tiempo que se induce la respuesta del sistema de defensa del huésped. En el caso de neumococo, la adición de dendrímeros de colina o de módulos de unión a colina (denominados CBMs) causa encadenamiento y agregación celulares, provocando un incremento de la fagocitosis bacteriana.

Finalmente, estamos introduciendo procedimientos de nanotecnología en el laboratorio destinados a la inmovilización multivalente de los compuestos reseñados sobre nanopartículas de diferente naturaleza química, con el fin último de incrementar sustancialmente su actividad, disminuyendo así las dosis necesarias.

## PUBLICACIONES MÁS RELEVANTES

- Vázquez R, García P.** (2019). Synergy between two chimeric lysins to kill *Streptococcus pneumoniae*. *Front Microbiol* 10:1251. doi.org/10.3389/fmicb.2019.01251.
- Roig-Molina E, Domenech M, Retamosa M de G, Nàcher-Vázquez M, Rivas L, Maestro B, García P, García E, Sanz JM.** (2019). Widening the antimicrobial spectrum of esters of bicyclic amines: *in vitro* effect on Gram-positive *Streptococcus pneumoniae* and Gram-negative non-typeable *Haemophilus influenzae* biofilms. *Biochim Biophys Acta* 1863: 96–104.
- Ercibengoa M, Alonso M, Vicente D, Morales M, García E, Marimón, JM.** (2019). Utility of MALDI-TOF MS as a new tool for *Streptococcus pneumoniae* serotyping. *PLoS One* 14: e0212022.
- Bello-Gil D, Maestro B, Fonseca J, Dinjaski N, Prieto MA, Sanz JM.** (2018). Poly-3-hydroxybutyrate functionalization with BioF-tagged recombinant proteins. *Appl Environ Microbiol* 84: e02595-17.
- Vázquez R, García E, García P.** (2018). Phage lysins for fighting bacterial respiratory infections: a new generation of antimicrobials. *Front Immunol* 9: 2252.
- Ferrándiz MJ, Cercenado MI, Domenech M, Tirado-Vélez JM, Escolano-Martínez MS, Yuste J, García E, de la Campa AG, Martín-Galiano AJ.** (2018). An uncharacterized member of the Gls24 protein superfamily is a putative sensor of essential amino acid availability in *Streptococcus pneumoniae*. *Microb Ecol* 77: 471–487.
- Domenech M, García E.** (2018). Autolysis-independent DNA release in *Streptococcus pneumoniae* *in vitro* biofilms. *Clin Infect Dis Open Access* 2, 114. <https://www.omicsonline.org/open-access/autolysin-independent-dna-release-in-streptococcus-pneumoniae-in-vitro-biofilms.pdf>.
- Zamora-Carreras H, Maestro B, Strandberg E, Ulrich A, Sanz JM, Jiménez MA.** (2018). Roles of amphipathicity and hydrophobicity in the micelle-driven structural switch of a 14-mer peptide core from a choline-binding repeat. *Chem Eur J* 24: 5825–5839.
- Corsini B, Díez-Martínez R, Aguinagalde L, González-Camacho F, García-Fernández E, Letrado P, García P, Yuste J.** (2018). Chemotherapy with phage lysins reduces pneumococcal colonization of the respiratory tract. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e02212-17.
- Letrado P, Corsini B, Díez-Martínez R, Bustamante N, Yuste JE, García P.** (2018). Bactericidal synergism between antibiotics and phage endolysin Cpl-711 to kill multidrug-resistant pneumococcus. *Future Microbiol* 13:1215-1223.