

La Pared Celular de *Candida*: Aliado o Enemigo en la Batalla contra las Enfermedades Fúngicas

JESÚS ALBERTO GÓMEZ-NAVAJAS, SEBASTIÁN FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, MARÍA TERESA BLÁZQUEZ-MUÑOZ, FERNANDO HIDALGO-MONTERO, ANDREA SERRANO-VARELA, PIET W.J. DE GROOT, AND MARÍA ALVARADO

Laboratorio de Micología Molecular, Instituto de Biomedicina, ETSIAMB, Universidad de Castilla-La Mancha, Calle Almansa 14, 02008, Albacete

✉ piet.degroot@uclm.es



Miembros del grupo.

En el laboratorio de Micología Molecular situado en Albacete y liderado por el Dr. Piet de Groot, estudiamos el papel que juega la pared celular de diferentes especies de *Candida* en los procesos moleculares que provocan el establecimiento de infecciones fúngicas, centrándonos en particular en las proteínas, unidas covalentemente a la matriz de polisacáridos, que intervienen en las interacciones primarias entre el hospedador y el patógeno y en la formación de biopelículas. Mientras que el laboratorio forma parte del grupo consolidado Medicina Molecular del Instituto de Biomedicina

de la UCLM, en nuestros proyectos colaboramos con otros grupos como los de Drs. E. Eraso y E. Mateo (Universidad del País Vasco, Bilbao), Dr. E. Valentín (Universidad de Valencia), Dr. T. Gabaldón (Centro de Regulación Genómica, Barcelona), Dr. A. Blázquez (Hospital General Universitario de Albacete), Dr. O. Bader (Göttingen University, Alemania) o Dr. G. Kramer (Universidad de Ámsterdam, Países Bajos).

Las especies del género *Candida* son un grupo de hongos patógenos oportunistas que causan infecciones superficiales, así

como infecciones invasivas en pacientes inmunocomprometidos. Las infecciones diseminadas son difíciles de tratar y diagnosticar por lo que suponen un riesgo para la vida del paciente. Cada año se producen ~400 000 casos de candidemia en todo el mundo, con tasas de mortalidad que superan el 40% (Koehler *et al.*, 2019; WHO, 2022; Denning, 2024).

El agente causal más prevalente de candidiasis es *C. albicans*. Sin embargo, en los últimos años se ha observado un aumento de las infecciones causadas por cepas

resistentes y otras especies de *Candida* como *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei*. Además destaca *Candida auris*, una levadura emergente reconocida como patógeno crítico por su rápido aumento como agente causal de infecciones letales adquiridas en las UCIs en hospitales de todo el mundo. Su incidencia se ha relacionado con su resistencia antifúngica, persistencia en el medio hospitalario y capacidad de transmisión horizontal. El tratamiento quimioterápico en cáncer, inmunosupresión en trasplantados, el tratamiento de enfermos críticos en las unidades de cuidados intensivos (UCI), la pandemia de COVID-19, y el envejecimiento de la población han contribuido a aumentar la población susceptible de adquirir infecciones fúngicas. Los elevados costes derivados de la prevención, diagnóstico y tratamiento de micosis invasivas y el limitado repertorio actual de fármacos disponibles requieren una investigación urgente para establecer nuevas estrategias antifúngicas.

Principales líneas de investigación

➤ Análisis de la pared celular del patógeno emergente *Candida auris*

En una de las líneas principales de nuestro laboratorio, estudiamos la pared celular del patógeno emergente multirresistente *Candida auris*. A través de aproximaciones bioinformáticas obtuvimos un inventario 'genome-wide' de genes involucrados en la síntesis de la pared celular y mediante aproximaciones proteómicas (espectrometría de masas) identificamos las proteínas incorporadas a la pared celular (CWPs) en aislados clínicos. Las CWPs más interesantes identificadas en condiciones relevantes para la infección suponen objetivos para los estudios posteriores de caracterización fenotípica, para lo cual generamos mutantes de delección mediante la aplicación de la metodología CRISPR-Cas9 y analizamos su papel en la síntesis de la pared celular, la formación de biopelículas, la resistencia a fármacos antifúngicos y la virulencia (Alvarado *et al.*, 2024).

Uno de los problemas relativos a las infecciones causadas por *C. auris*, especialmente durante los primeros años después de su descubrimiento como nueva especie, era su correcta identificación a nivel de especie,

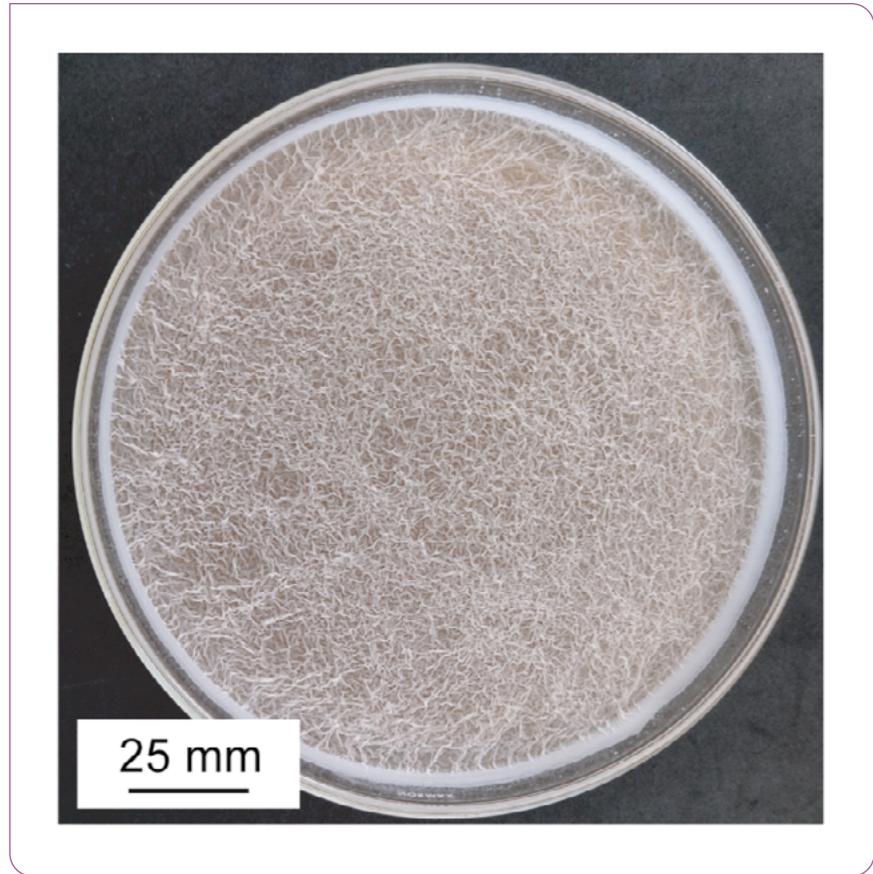


Figura 1: Biopelícula flotante de *Candida krusei* tras 24 h de cultivo en YPD en una placa Petri.

obstaculizando el tratamiento adecuado. Empleando nuestro 'pipeline' bioinformático, identificamos algunos genes codificantes para proteínas con anclajes de glicosilfosfatidilinositol (GPI) que podrían ser únicos para *C. auris* ya que no presentan homólogos en otras especies patógenas de *Candida* o en las bases de datos de genes o proteínas públicas. Por lo tanto, estos genes podrían servir como marcadores moleculares para la identificación rápida por PCR de infecciones causadas por *C. auris*, algo que hemos desarrollado con éxito aplicando técnicas de multiplex PCR convencionales y en tiempo real, comprobando su especificidad y eficacia con un gran número de aislados clínicos incluyendo todos los clados genéticamente diversos de *C. auris* (Alvarado *et al.*, 2021).

➤ Caracterización de las adhesinas en la pared celular de *Candida glabrata*

Mientras que en *C. albicans* el cambio de la morfología entre la forma levadura e

hifal se considera un factor crucial de virulencia, *C. glabrata* (*Nakaseomyces glabratus*) crece estrictamente como levadura. Sin embargo, el genoma de *C. glabrata* contiene un gran número de genes identificados *in silico* como adhesinas de la pared celular (Marcet-Houben *et al.*, 2022). Con posibles funciones en la adhesión fúngica a superficies, las interacciones célula-célula y en la formación de biopelículas, estos genes podrían relacionarse por tanto con el éxito de *C. glabrata* como patógeno. Mediante la realización de análisis proteómicos de la pared celular de aislados clínicos hiperadhesivos hemos identificado y descrito varias nuevas adhesinas (Fernández-Pereira *et al.*, 2021; Reithofer *et al.*, 2021), el estudio de otras adhesinas está en progreso en nuestro laboratorio.

➤ Caracterización molecular de la pared celular de *Candida krusei*

En comparación con las otras especies de *Candida* clínicamente relevantes, la

levadura *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*) se localiza filogenéticamente más distante a *C. albicans*, y su pared celular está relativamente poco estudiada. Combinando aproximaciones bioinformáticas, proteómicas y bioquímicas hemos desarrollado un estudio integrado de la pared celular en *C. krusei* (Alvarado *et al.*, 2023). Este estudio reveló que la estructura general de la pared celular de *C. krusei* está compuesta por β -1,3-glucano, β -1,6-glucano, quitina y manoproteínas, similar a la de *Saccharomyces cerevisiae* y *C. albicans*, sin embargo, se observaron algunas diferencias pronunciadas con las paredes de *C. albicans*. Por ejemplo, *C. krusei* presenta mayores niveles de manano y proteínas y patrones alterados de manosilación de proteínas en su pared. Curiosamente, cultivos estáticos de 24 horas de *C. krusei* dieron lugar a la formación de biopelículas flotantes (flor; Figura 1) en lugar de biopelículas adheridas al fondo (poliestireno). En estudios proteómicos, en consonancia con un posible papel en la formación de flor, se observó una mayor abundancia de floculinas en la biopelícula flotante, allanando el camino para estudios futuros sobre la importancia de la formación de flor y las floculinas en la patogénesis de *C. krusei*.

Referencias

- Alvarado M, Bartolomé Álvarez J, Lockhart SR, Valentín E, Ruiz-Gaitán AC, Eraso E, De Groot PWJ. (2021). Identification of *Candida auris* and related species by multiplex PCR based on unique GPI protein-encoding genes. *Mycoses*. 64(2):194-202.
- Alvarado M, Gómez-Navajas JA, Blázquez-Muñoz MT, Gómez-Molero E, Berbegal C, Eraso E, Kramer G, De Groot PWJ. (2023). Integrated post-genomic cell wall analysis reveals floating biofilm formation associated with high expression of flocculins in the pathogen *Pichia kudriavzevii*. *PLoS Pathog*. 19(5):e1011158.
- Alvarado M, Gómez-Navajas JA, Blázquez-Muñoz MT, Gómez-Molero E, Fernández-Sánchez S, Eraso E, Munro CA, Valentín E, Mateo E, De Groot PWJ. (2024). The good, the bad, and the hazardous: comparative genomic analysis unveils cell wall features in the pathogen *Candidozyma auris* typical for both baker's yeast and *Candida*. *FEMS Yeast Res*. 24:foae039.
- Denning DW. Global incidence and mortality of severe fungal disease. (2024). *Lancet Infect Dis*. 24(7):e428-e438.
- Fernández-Pereira J, Alvarado M, Gómez-Molero E, Dekker HL, Blázquez-Muñoz MT, Eraso E, Bader O, de Groot PWJ. (2021). Characterization of Awp14, A novel cluster III adhesin identified in a high biofilm-forming *Candida glabrata* isolate. *Front Cell Infect Microbiol*. 11:790465.
- Koehler P, Stecher M, Cornely OA, Koehler D, Vehreschild MJGT, Bohlius J, Wisplinghoff H, Vehreschild JJ. (2019). Morbidity and mortality of candidaemia in Europe: an epidemiologic meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 25(10):1200-1212.
- Marcet-Houben M, Alvarado M, Ksiezopolska E, Saus E, De Groot PWJ, Gabaldón T. 2022. Chromosome-level assemblies from diverse clades reveal limited structural and gene content variation in the genome of *Candida glabrata*. *BMC Biol*. 20(1):226.
- Reithofer V, Fernández-Pereira J, Alvarado M, De Groot P, Essen LO. (2021). A novel class of *Candida glabrata* cell wall proteins with β -helix fold mediates adhesion in clinical isolates. *PLoS Pathog*. 17(12):e1009980.
- World Health Organization. (2022). WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. <https://www.who.int/publications/fungalpathogenslist>

