

***Candida albicans*: De comensal inocente a invasora sin límites.**

Ángela Restrepo M., Ph.D., Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Colombia

Candida albicans es una levadura diploide que se reproduce por gemación dando lugar a una colonia blanca, aspectos éstos que la harían considerar como un germen inofensivo. En las personas normales es, en realidad, un comensal inocuo de las membranas mucosas pero en la actualidad esta levadura ha adquirido especial importancia como agente causal de enfermedad. La multiplicación de *C. albicans* es controlada por el balance fisiológico del organismo y por la “sana” competencia de los gérmenes que constituyen la microbiota del hombre pero cuando el hospedero presenta alguna condición patológica de base, los síntomas y signos de la candidiasis no se hacen esperar. En el hombre, *C. albicans* puede afectar cualquier órgano o sistema, dando lugar a diversas formas de candidiasis, dos de las cuales han aumentado notoriamente la morbilidad y la mortalidad de estas afecciones, a saber: (1) la candidiasis orofaríngea recurrente o refractaria del paciente que vive con el VIH y (2) la candidiasis sistémica (candidemia) del paciente hospitalizado. La primera se presenta en 70% de los pacientes VIH+, y la segunda lleva a la muerte a 35% de los pacientes con esta afección.

El aumento en el número de pacientes inmunocomprometidos, ha hecho necesario el empleo a gran escala de agentes quimioterapéuticos, lo que, a su vez, ha resultado en la aparición de resistencia y en la selección de especies diferentes a *C. albicans*, que son mucho más difíciles de tratar. En algunos casos, inclusive, los compuestos disponibles no logran controlar la afección. Es por ello que se están realizando esfuerzos tendientes a buscar compuestos antifúngicos que tengan, como “blanco” de acción, aquellos factores que le concedan al microorganismo la capacidad de producir enfermedad. Tal enfoque es ahora posible gracias a la aplicación de estrategias basadas en biología molecular, las que permiten determinar la presencia de genes y conocer los efectos de su expresión en términos de virulencia. Ésta es el resultado de la batalla librada entre el germen con capacidades invasoras y un hospedero con ciertas capacidades de defensa, como lo demuestra el que microorganismos avirulentos resulten patógenos en pacientes inmunocomprometidos pero no así en aquellos que son competentes. Lo anterior indica que ambos actores juegan un papel, por lo que la virulencia podría definirse como la expresión por el patógeno de un factor que causa daño al hospedero.

En presencia de enfermedades de base o de trastornos fisiológicos, *C. albicans* altera su posición como comensal para expresar sus atributos de germen patógeno. Es entonces cuando se multiplica rápidamente a nivel de áreas normalmente colonizadas y se disemina hasta alcanzar sitios distantes; igualmente, experimenta cambios importantes en su constitución, relacionados con su forma de reproducción y con la regulación genética que le permite expresar enzimas capaces de alterar los tejidos del hospedero. Para realizar el cambio de comensal a patógeno, es crucial que la levadura haya residido en sitios anatómicos diversos (cavidad oral, esófago, tracto GI, vagina) por que si quiere sobrevivir, la levadura debe aprender a sortear las barreras que le presentan tanto el hospedero (pH, células efectoras, epitelio) como la microbiota usual de cada sitio. Un ejemplo del poder de adaptación de la levadura fue obtenido al

demostrar que cuando *C. albicans* se encuentra en la sangre o en los tejidos, donde el pH es neutro, expresa un gen (PHR1) pero cuando se encuentra en el canal vaginal (pH <5), este gen se “apaga” y aparece otro (PHR2) que le permite vivir bajo las nuevas condiciones.

Descifrar los mecanismos que *C. albicans* utiliza para enfrentarse al hospedero, no ha sido tarea fácil y, solo recientemente, se dispuso del conocimiento y de la metodología para ello. Fue necesario aprender a trabajar con microorganismos diploides, contar con secuencias génicas, desarrollar técnicas de disrupción (*knockout*) en ambos alelos del gen y aprender a utilizar protocolos de transformación que permitieran introducir ADN exógeno para obtener mutantes que pudieran utilizarse en modelos animales. Solo estos últimos señalarían si en comparación con la virulencia de las cepas originales, las mutantes habían retenido tal capacidad o la habían perdido.

La secuencia de eventos que tienen lugar durante la interacción *Candida*-hospedero a nivel de una superficie mucosa es simple: Al germinar, la levadura produce una blastoconidia (es decir, una gema) o un tubo germinal (túbulo nacido de una blastoconidia). Si produce el tubo germinal, éste penetra a la submucosa. Si solamente gema, es aun posible seguir el mismo camino por un proceso de translocación, como sucede por ejemplo, en la mucosa intestinal. Por otro lado, los macrófagos de la mucosa pueden fagocitar levaduras y llevarlas a planos más profundos. Es por ello que el proceso de morfogénesis representa el primer factor de virulencia de *C. albicans*.

1) Cambios de forma

Una levadura de *C. albicans* puede convertirse en un seudomicelio (cadena de células alargadas) o en un micelio verdadero (túbulo sin constricciones). Tales micelios suelen ser invasores ya que logran penetrar a través de la superficie sobre la cual se encuentran. La búsqueda de una relación entre filamentación y virulencia, ha sido difícil puesto que *C. albicans* es diploide, lo cual dificulta la obtención de mutantes que no produzcan tubos germinales ni filamentos tipo miceliar. Sin embargo, dos experimentos recientes tienden a comprobar que la morfogénesis sí está relacionada con la patogenicidad. En el primer experimento, se logró la disrupción simultánea de 2 genes (CPH1 y EFG1), lo que originó una mutante doble (*cph1/cph1-efg1/ehg1*) que no daba filamentos. Ya “aprisionada” bajo la forma de levadura esta mutante resultó avirulenta en un modelo experimental en ratones.

2) Tigmotropismo (guiarse por contacto)

Para *C. albicans*, el desarrollo de la hifa es una forma de penetrar la superficie epitelial y de ganar terreno. Se ha estudiado el comportamiento de las blastoconidias luego de ser depositadas sobre membranas de filtro (poros de 5 µm) colocadas, a su vez, sobre agar con suero. Después de la incubación (37°C, 24 h), las membranas se fijan y se examinan al microscopio electrónico, lo que permite evidenciar que una vez ocurrida la germinación de las blastoconidias, las hifas que se encontraban en un poro, lo penetraban, se “arrastraban” sobre la superficie hasta encontrar otro poro, repitiendo el proceso. Es decir, este guiarse por contacto, le permite a las

hifas buscar terreno adecuado y penetrar a través de poros o de pequeñas soluciones de continuidad, como los que ocurren entre célula y célula a nivel de un epitelio

3) Adherencia

Un evento crítico para que *C. albicans* pueda establecer un nicho en tejidos barridos por líquidos corporales, es su adherencia a las células/proteínas de tales tejidos y también el ser reconocida por el hospedero. El primer evento es promovido por adhesinas, biomoléculas que facilitan la adherencia a los tejidos, bien sea a las células mismas o a ligandos celulares. El interés en este campo surgió como resultado de: (i) la observación de mutantes espontáneas que al ser incapaces de adherirse, eran avirulentas y (ii) la identificación de proteínas de *C. albicans* que, a su vez, se ligaban a ciertas proteínas (fibronectina, laminina, fibrinógeno, colágenos) presentes en la matriz extracelular (ECM) de células humanas. En *C. albicans* se han identificado varios genes (ejemplo: HWP1) que codifican para proteínas encargadas de regular la adherencia y cuyo producto de expresión (Hwp1) permite formar uniones cruzadas estables con proteínas del hospedero, entre ellas las transglutaminasas. La inhibición de esta enzima con anticuerpos monoclonales, resulta en incapacidad de adherencia. Por lo anterior, se considera que las levaduras con tubo germinal reconocen la presencia de la transglutaminasa en las células de su hospedero, y la aprovechan para adherirse a la mucosa.

En cuanto al reconocimiento por el hospedero, las levaduras se adhieren a la membrana basal del endotelio y a los componentes de la matriz extracelular (ECM). Una de las glicoproteínas más frecuentes en los tejidos es la vitronectina (VN). Los receptores propios de *C. albicans*, permiten que más de 50% de las levaduras se adhieran espontáneamente a la VN, la que actúa como integrina. Anticuerpos monoclonales dirigidos contra varias de las vitronectinas humanas impidieron la adherencia, indicando así que los receptores de *C. albicans* estaban antigénicamente relacionados con tales integrinas y que éstas mediaban la adherencia.

4) Producción de enzimas

La capacidad para secretar enzimas que rompan las barreras mucosas y permitan alcanzar planos profundos, está bien desarrollada en *C. albicans*. Se destacan dos grandes familias que son secretadas fácilmente, las fosfolipasas (PL) y las proteinasas aspárticas (SAP). Una de las 4 PL (glicoproteína de 84 kDa) es requerida para producir candidiasis sistémica letal en ratones puesto que una mutante sin el gen correspondiente, resulta incapaz de ocasionar la muerte de los animales. En cuanto a la familia de las SAP, ellas son expresadas de acuerdo con el sitio de la infección (mucosas vs. órganos profundos); igualmente, varía el tipo de SAP de acuerdo con el progreso de la afección, expresándose una al momento del contacto inicial y otra durante la diseminación. Este conocimiento permitirá, en el futuro, determinar el momento en el cual se manifiesta un gen de virulencia para tratar de impedir su acción.

5) Cambios (“switching”) fenotípicos

Estos son definidos como la habilidad de poblaciones celulares para alterar espontánea y rápidamente su expresión genética, posiblemente por un arreglo genético reversible. *C. albicans* es capaz de cambiar el aspecto y el color de sus colonias y, a veces también, de modificar su apariencia microscópica. Dicha capacidad se sobrepone pero no se identifica con la transición levadura-micelio. Se han descrito varias formas de cambio, siendo las más frecuentes las relacionadas con el aspecto de la colonia: brillante \Rightarrow opaco; lisa \Rightarrow rugosa; contornos precisos \Rightarrow contornos tipo araña. Detrás de este cambio fenotípico reversible está una transcripción genética diferencial que puede afectar muchos de los aspectos fisiológicos y morfológicos, incluyendo algunos de los “factores de virulencia” y la resistencia a los antimicóticos. Estos cambios hacen parte de la amplia gama de recursos que posee *C. albicans* y que le garantizan una variabilidad poblacional, la cual es fundamental para lograr su adaptación al ambiente y, por ende, su supervivencia. El cambio (“switching”) fenotípico es un mecanismo de defensa contra las presiones del hospedero y podría promover la afinidad de la levadura por determinados tejidos o facilitar la expresión de antígenos diferentes.

C. albicans es una levadura polimórfica que ha dejado de ser un comensal inocuo para transformarse en una seria amenaza para los pacientes inmunocomprometidos y para los que son sometidos a los modernos procedimientos médicos. Es por ello que de la búsqueda de métodos diagnósticos y de estudios sobre su morbilidad y mortalidad, se ha pasado a la investigación básica de base molecular. Gracias a ellos se está generando un conocimiento valioso que encierra, entre otras, la posibilidad de desarrollar nuevas armas terapéuticas por medio de la identificación de factores de virulencia, algunos de los cuales pudieran ser “blancos” de intervención.

Lecturas recomendadas

Brown AJP, Gow NAR, Regulatory networks controlling *Candida albicans* morphogenesis. Trends Microbiol 7: 333-338, 1999

De Bernardis F, Sullivan PA et al. Aspartyl proteinases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity. Med Mycol 39: 303-313, 2001

Calderon RC, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. Trends Microbiol 9: 327-335, 2001

Casadevall A, Pirofski LA. Host-pathogen interactions: The attributes of virulence. J Infect Dis 184: 337-344, 2001

Edwards JE, *Candida* species. En. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (ed) *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th Edition. Churchill & Livingstone, Philadelphia, 2000, pp 2656-2674.

Haynes K. Virulence in *Candida* species. Trends Microbiol 9: 19: 591-596, 2001

Perfect JR. Fungal virulence genes as targets for antifungal chemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 1577-1583, 1996

Rangel-Fausto MS, Wibilin T, et al. National epidemiology of mycoses survey (NEMIS): variation in rates of bloodstream infections due to *Candida* species. *Clin Infect Dis* 29: 253-258, 1999

Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberam Micol* 17: 73-81, 2000

Sprenghini E, Gismondi A, et al. Evidence for $\alpha v \beta 3 \beta$ and $\alpha v \beta 5 \beta$ integrin-like vitronectin (VN) receptors in *Candida albicans* and their involvement in yeast cell adhesion to VN. *J Infect Dis* 180: 156-166, 1999

Staib P, Kretzchmar M et al. Differential activation of a *Candida albicans* virulence gene family during infection. *Proc Nat Acad Sci* 97:11, 6102-6107, 2000

Sturtevan J, Calderon RC. *Candida albicans* adhesins: Biochemical aspects and virulence, *Rev Iberoam Micol* 14: 90-97, 1997

Vargas K, Messer SA et al. Elevated phenotypic switching and drug resistance of *Candida albicans* from human immunodeficiency virus-positive individuals prior to first thrush episode. *J Clin Microbiol* 38: 3593-3607, 2000

Walmsley S, King S, et al. Oropharyngeal Candidiasis in Patients with Human Immunodeficiency Virus: Correlation of Clinical Outcome with In Vitro Resistance, Serum Azole Levels, and Immunosuppression. *Clin Infect Dis* 32:1554-1561, 2001