

Biología del proceso de adhesión de *Sporothrix schenckii* y otros micopatógenos de humanos hacia los tejidos hospederos

Gerardo Sandoval Bernal¹, Gloria Barbosa Sabanero²,
Myrna Sabanero López³

RESUMEN

El principal evento durante el establecimiento, colonización e invasión de los tejidos hospederos por microorganismos patógenos es la adhesión a su célula blanco. No obstante, los hongos patógenos de humanos y animales, han desarrollado estrategias novedosas para producir moléculas con relevancia patogénica hacia la célula blanco. Estas moléculas son consideradas como factores de virulencia. En el presente trabajo se hace una breve revisión sobre los aspectos que rigen los procesos de adhesión de *Sporothrix schenckii* y otros micopatógenos de humanos hacia el tejido hospedero.

ABSTRACT

The principal event during establishment, colonization and invasion of the host tissues by microbial pathogens, is the adhesion to target cell. The fungal pathogens of human and animals develop novel strategies to produce molecules with pathogenic importance to damage the host tissues. These molecules could be a virulence factors. In

Palabras clave: *Sporothrix schenckii*, esporotricosis, glicoproteínas y adhesinas.

Key words: *Sporothrix schenckii*, sporotrichosis, glycoproteins and adhesins.

Recibido: 12 de septiembre de 2008, aceptado: 27 de noviembre de 2008

¹ Instituto de Investigación en Biología Experimental, Facultad de Química, Universidad de Guanajuato.

² Instituto de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Guanajuato.

³ Instituto de Investigación en Biología Experimental, Facultad de Química, Universidad de Guanajuato. myrna@quijote.ugto.mx.

this work, we make a brief revision about the aspects that govern adhesion process of *Sporothrix schenckii* and other human micopathogens to host tissues.

Aspectos generales en la adhesión microbiana

La adhesión microbiana es un proceso que consiste en el reconocimiento, interacción y anclaje del patógeno hacia la célula blanco. Este fenómeno es considerado como prerequisite para la colonización y un paso fundamental para el establecimiento de la infección (Calderone *et al.*, 2001). Después de colonizar al tejido del hospedero, el patógeno puede invadir el espacio vascular donde continuará diseminándose, causando septicemia. Numerosos estudios clínicos relacionan la adhesión y colonización *in vivo*, con la subsecuente invasión microbiana (Pendrak *et al.*, 1995). Los patógenos son capaces de adherirse a células epiteliales, endoteliales, factores solubles del suero, componentes de la matriz extracelular y materiales inertes implantados en el cuerpo del hospedero (Hostetter MK., 2000). Durante el desarrollo de las infecciones causadas por protozoarios, hongos, bacterias y virus, la adhesión es regida por la complementariedad entre las moléculas del patógeno y las del hospedero. Las interacciones físicas de los microorganismos patógenos de plantas y animales con el hospedero, se presenta a nivel de la superficie celular. En el caso de bacterias y hongos, los constituyentes proteicos de la pared celular del patógeno involucrados en dicho proceso, son denotados comúnmente como "adhesinas" mientras que el componente de la célula blanco que es reconocido por el patógeno, es designado como "ligando" o "receptor". Cabe destacar que los

que poseen el hospedero son diversos, éstos pueden ser carbohidratos, proteínas y lípidos (Panizo *et al.*, 2001).

Respecto a patógenos de naturaleza fúngica, el proceso de adhesión ha sido extensamente estudiado, sobre todo patógenos oportunistas tales como *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* (Mendes-Giannini *et al.*, 2000). Los resultados indican que glicoproteínas presentes en la superficie de hongos patógenos tienen un papel importante en la adhesión, antigenicidad, modulación de la respuesta inmune adquirida, y en el reconocimiento de este hongo por las células de inmunidad innata (Bates *et al.*, 2006, Martínez – López *et al.*, 2008). Por ejemplo, el patógeno oportunista *Candida albicans* (agente causal de la candidiasis), se le han caracterizado las siguientes adhesinas: 1) Manoproteínas de diferente peso molecular (30, 55, 58 60, 66, 70, 130 y 165 kDa) que median la unión a proteínas de la matriz extracelular y del complemento (Sturtevant 2004); 2) INT1p: Adhesina involucrada en la adhesión a epitelios (Gale *et al.*, 1998); 3) La proteína de pared micelial Hwp1 (Nobile *et al.*, 2006) y la proteína de adherencia extracelular Eap1 (Li *et al.*, 2008) y 4) La familia de los genes ALS que codifican para una serie de proteínas con secuencia tipo aglutinina (Nobile *et al.*, 2008). En cuanto al agente causal de la paracoccidiomicosis, *Paracoccidioides brasiliensis*, se describió la glicoproteína Gp43, la cual es la responsable de la adhesión a células epiteliales (Flavia *et al.*, 2002). Para *Histoplasma capsulatum*, agente causal de la histoplasmosis, fue reportado una adhesina tipo lectina (50 kDa) de unión a laminina (Mendes-Giannini *et al.*, 2000). *Fonsecaea pedrosoi* (agente causal de la cromoblastomicosis) posee una adhesina tipo lectina de 50 kDa que reconoce Manosa y N – Acetilglucosamina (Alviano *et al.*, 2004).

Sporothrix schenckii

Este hongo dimórfico patógeno de humanos y animales, causa la enfermedad llamada esporotricosis, una micosis subcutánea granulomatosa de curso crónico y asociada a padecimiento linfático nodular (Costa *et al.*, 2008). En los últimos años, la incidencia de las infecciones causadas por *S. schenckii*, han tenido un significativo incremento, sin embargo, la esporotricosis ha sido reportada como una micosis emergente debido a

la amplia utilización de terapias inmunosupresivas, SIDA, cáncer y alcoholismo (Lopes – Bezerra *et al.*, 2006).

Poco se conoce sobre los factores que determinan la adhesión de *S. schenckii* a la célula blanco y la posterior colonización e invasión de los tejidos hospederos. Con el paso del tiempo, se han caracterizado algunos de los componentes de la superficie del hongo a los cuales se les ha tratado de asociar con la patogenicidad. Por ejemplo, la pared celular de *S. schenckii* contiene una fina capa de material electro denso constituida por β -glucanas y una peptidoramnomana constituida por 14.2 % de proteína y 84.6 % de carbohidratos con manosa y ramnosa como los azúcares más importantes (Llyod *et al.*, 1971, Garrison *et al.*, 1975, Previato *et al.*, 1979). Esta peptidoramnomana reacciona con el suero de pacientes con esporotricosis y con la lectina concanavalina A. Particularmente, la peptidoramnomana de las levaduras de *S. schenckii* presenta mayor reactividad a la Concanavalina A, con respecto a la de micelio y conidias de *S. schenckii* (Travassos *et al.*, 1977). Ensayos demuestran que la fracción de la peptidoramnomana que se une a Concanavalina A, han permitido identificar tres antígenos con pesos moleculares aproximados de 58, 70 y 84 kDa, siendo este último el mayoritario y el que reacciona fuertemente con la lectina (Lima *et al.*, 1997). Además, se han observado diferencias en la composición de la pared celular de conidias y levaduras y estas discrepancias se relacionan con la virulencia y patogénesis de este microorganismo (Fernández, 1998).

La gran parte del conocimiento que se tiene acerca de los determinantes de virulencia de *S. schenckii* proviene de los organismos infectados así como de modelos animales. Recientemente se han empleado estudios *in vitro* usando cultivos celulares. En este sentido Lima *et al.*, (1999) por medio de ensayos de inmunofluorescencia indirecta, se demostró que *S. schenckii* es capaz de unirse a proteínas de matriz extracelular como fibronectina, colágena tipo II y laminina, encontrando también que la adhesión dependía del inóculo, del tiempo de interacción, del estadio morfológico y de la presencia de cationes divalentes como el Ca^{+2} y Mg^{+2} . Se ha sugerido que la interacción de *S. schenckii* con su tejido huésped es mediada por glicoproteínas tipo adhesinas presentes en la superficie del patógeno y que su síntesis está en función de los estadios específicos

del desarrollo de *S. schenckii* (Lima *et al.*, 2001).

Al interaccionar levaduras de *S. schenckii* con células endoteliales de cordón umbilical humano, se observó que las levaduras se unen eficientemente a dichas células tanto *in vitro* como *in vivo*. Esta interacción es modulada por iones divalentes como Ca^{+2} y Mg^{+2} y por citocinas particularmente IL-9 y TGF- β . También se demostró que el hongo es capaz de invadir a las células endoteliales sin causar daño a la célula huésped. Entre las moléculas de la superficie endotelial involucradas en la interacción con *S. schenckii* se encontraron dos proteínas principales con 90 y 135 kDa de peso molecular (Figueiredo *et al.*, 2004).

Sabanero López *et al.*, (2006) al usar en cultivos de epitelio murino, demostró que levaduras de *S. schenckii* son capaces de interaccionar, adherirse y causar efecto citopático en un tiempo dependiente (Figura 1 y 2). Sandoval – Bernal *et al.*, (2006), por medio de marcaje de moléculas de superficie de los epitelios con Sulfo-NHS-LC Biotina, observó que moléculas de la superficie del epitelio con peso molecular de 135, 90, 60, 55, 24 kDa, participan en la interacción hongo - epitelio y algunas de estas moléculas son glicoproteínas con residuos de manosa y N-acetilglucosamina.

Ruiz – Baca y col., (2008) reportó que a partir de la extracción de las paredes celulares de levaduras de *S. schenckii* con dodecil sulfato de sodio y la separación de proteínas por electroforesis, condujo a la identificación de una glicoproteína 70 kDa (Gp70). Sin embargo, anticuerpos policlonales contra Gp70, fueron capaces de inhibir la adhesión de las levaduras a la piel de ratón. Sus resultados sugieren que potencialmente la Gp70 participa en el proceso de adhesión de *S. schenckii* al tejido hospedero.

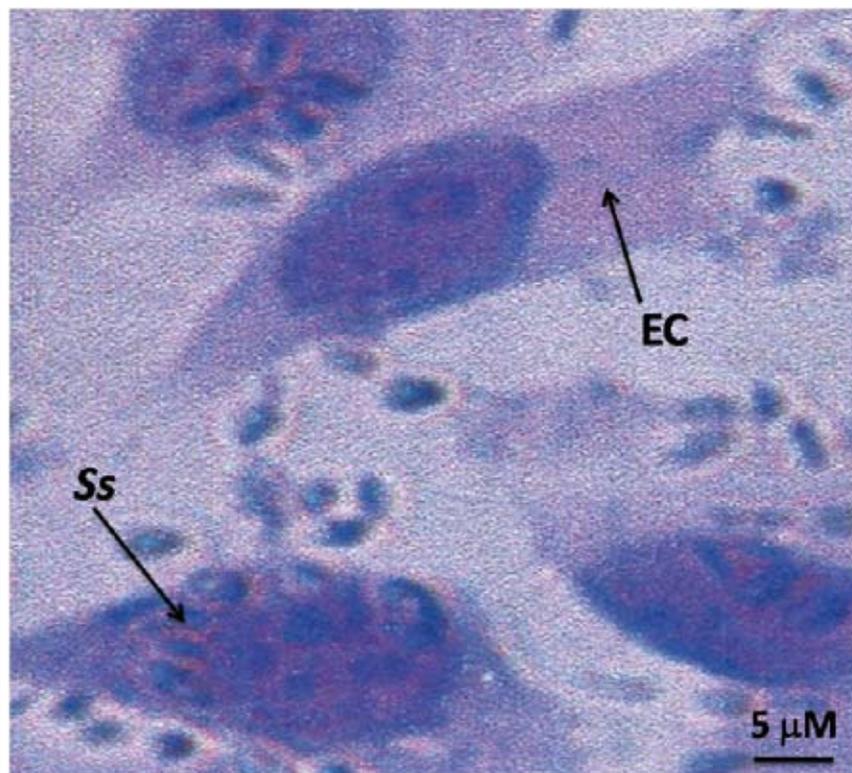


Figura 1. Adhesión de levaduras de *S. schenckii* (Ss) a células epiteliales (EC) *in vitro*. La interacción fue llevada a cabo por 24 h bajo condiciones de cultivo celular. Las muestras fueron tenidas con 0.3 % de cristal violeta. Aumento 1000X. (Sandoval Bernal, G., *et al.*, 2006).

Perspectivas

Estudios recientes de genética molecular han permitido evidenciar que el género *Sporothrix* posee una compleja red filogenética, especies. La delimitación entre dichas especies puede ser de extrema importancia desde un punto de vista clínico. El análisis molecular reveló que *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. inflata* y *S. schenckii* var. *luriei* son especies claramente diferentes a *S. schenckii*, tanto en sus propiedades bioquímicas como fisiológicas pero se desconoce mucho sobre su aspectos de virulencia (Marimon *et al.*, 2008). *S. schenckii* al carecer de un genoma completamente secuenciado, los estudios de glicoproteómica y de bioinformática enfocados a los antígenos de superficie podrían ser de ayuda para entender mucho sobre los aspectos moleculares que rigen la biología de la esporotricosis, y, en un futuro, fungen como un apoyo para el desarrollo de nuevas drogas antifúngicas dirigidas contra receptores esenciales.

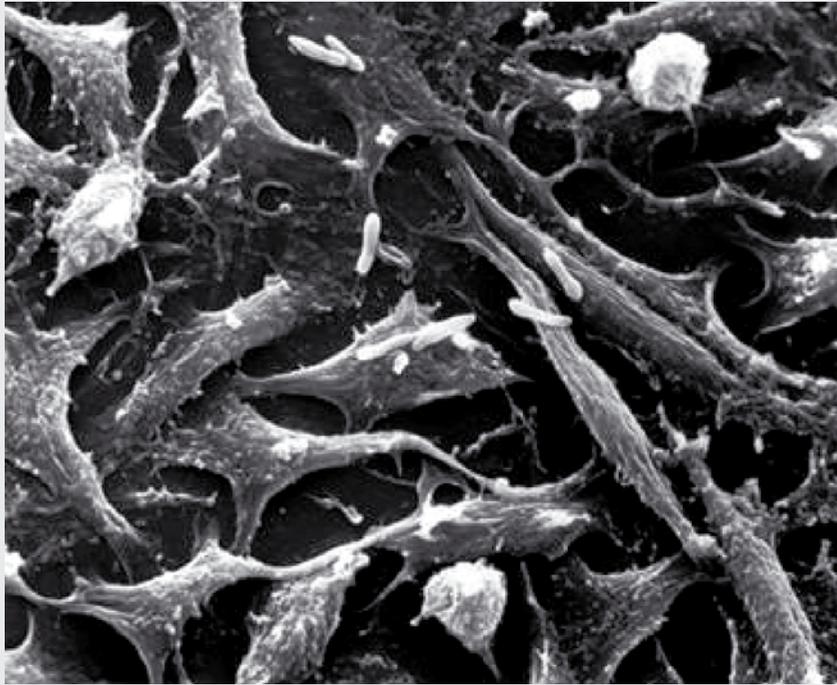


Figura 2. Análisis por microscopía electrónica de barrido de los procesos de adhesión de levaduras de *S. schenckii* hacia células epiteliales *in vitro*. Magnificación 3600x. (Sandoval Bernal, G., *et al.*, 2006).

REFERENCIAS

- ALVIANO, D.S., *et al.* Differential expression of sialylglycoconjugates and sialidase activity in distinct morphological stages of *Fonsecaea pedrosoi*. *Arch Microbiol* 181, págs. 278-286, 2004.
- BATES, S., *et al.* Outer chain N-glycans are required for cell wall integrity and virulence of *Candida albicans*. *J Biol Chem* 281, págs. 90-98, 2006.
- CALDERONE, R.A., *et al.* Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiol* 9, págs. 327-335, 2001.
- COSTA, R.O., *et al.* Infectious arthritis as the single manifestation of sporotrichosis: serology from serum and synovial fluid samples as an aid to diagnosis. *Rev. Iberoam. Micol.* 1, págs. 54-56, 2008.
- FERNANDES, K., *et al.* Estudo da virulencia do patógeno humano *Sporothrix schenckii* em modelo murino *in vivo* e *in vitro*. Master's Thesis, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 1998.
- FIGUEIREDO, C.C., *et al.* The *in vitro* interaction of *Sporothrix schenckii* with human endothelial cell is modulated by cytokines and involves endothelial surface molecules. *Microb Pathog* 36, págs. 177-188, 2004.
- FLAVIA, A.F., *et al.* GP43 from *Paracoccidioides brasiliensis* inhibits macrophage functions. An evasion mechanism of the fungus. *Cell Immunol* 218, págs. 87-94, 2002.
- GALE, C.A., *et al.* Linkage of adhesion, filamentous growth and virulence in *Candida albicans* to a single gene, INT1. *Science* 279, págs. 1355-1358, 1998.
- GARRISON, R.G., *et al.* Ultrastructural studies of mycelium - to - yeast transformation of *Sporothrix schenckii*. *J. Bacteriol* 124, págs. 959-968, 1975.
- HOSTETTER, M.K., RGD-mediated adhesion in fungal pathogens of humans, plants and insects. *Curr Opin Microbiol* 3, págs. 344-348, 2000.
- LI, F., *et al.* Distinct domains of the *Candida albicans* adhesin Eap1p mediate cell-cell and cell-substrate interactions. *Microbiol* 154, págs. 1193-1203, 2008.
- LIMA, O.C., *et al.* Identification of a Concanavalin A-binding antigen of the cell surface of *Sporothrix schenckii*. *J. Med. Vet. Mycol.* 35, págs. 167-172, 1997.
- LIMA, O.C., *et al.* Adhesion of the human pathogen *Sporothrix schenckii* to extracellular matrix proteins. *Braz J. Med. Biol. Res.* 32, págs. 651-657, 1999.

- LIMA, O.C., *et al.*, Adhesion of *Sporothrix schenckii* to human fibronectin: involvement of fungus cell wall components. *Infect Immun* 69, págs. 6874-6880, 2001.
- LLOYD, K.O., *et al.*, Isolation and purification of peptidoramnomannan from the yeast form of *Sporothrix schenckii*: Structural and immunochemical studies. *J Immunol* 107, págs. 663-671, 1971.
- LOPES – BEZERRA, L.M., *et al.*, *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 78, págs. 293-308, 2006.
- MARTÍNEZ-LÓPEZ, R., *et al.*, Immunoproteomic analysis of the protective response obtained from vaccination with *Candida albicans* ecm33 cell wall mutant in mice. *Proteomics* 13, págs. 2651-2664 2008.
- MARIMON, R., *et al.*, *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J. Clin. Microbiol.* 45, págs. 3198-3206, 2007.
- MENDES – GIANNINI, J.S., *et al.*, Pathogenesis II: Fungal responses to host responses: interaction of host cells with fungi. *Med. Mycol* 38, págs. 113-123, 2000.
- NOBILE, C.J., *et al.* Function of *Candida albicans* adhesin Hwp1 in biofilm formation. *Eukaryot Cell* 10, págs. 1604-1610, 2006.
- NOBILE, C.J., *et al.* Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation. *Curr. Biol.* 22, págs. 1017-1024, 2008.
- PANIZO M.M., *et al.* Adhesinas y receptores involucrados en el fenómeno de adherencia de *Candida albicans* a las células epiteliales. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 21, págs. 5-11, 2001.
- PENDRAK, M. L., *et al.* Adherence of *Candida albicans* to host cells. *FEMS Microbiol. Lett*, 129, págs. 103-114, 1995.
- PREVIATO, J.O., *et al.*, Soluble and insoluble glucans form different cell types of the human pathogen *Sporothrix schenckii*. *Exp. Mycol* 3, págs. 92-105, 1979.
- RUIZ – BACA, E., *et al.*, Isolation and some properties of a glycoprotein of 70 kDa (Gp70) from the cell wall of *Sporothrix schenckii* involved in fungal adherence to dermal extracellular matrix. *Med. Mycol* 4, págs. 1-13, 2008.
- SABANERO LÓPEZ, M., *et al.*, Interacción de levaduras de *Sporothrix schenckii* con epitelios. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes* 36, págs. 10-14, 2006.
- SANDOVAL – BERNAL, G. Interacciones de *Sporothrix schenckii*: con células epiteliales. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). Instituto de Investigación en Biología Experimental. Facultad de Química. Universidad de Guanajuato, 2006.
- STURTEVANT, P. Meeting report: *Candida* and Candidiasis, *Mycopathologia*.158, págs. 141-146, 2004.
- TRAVASSOS, L.R., *et al.*, Location and Biochemical Nature of Surface Component Reacting with Concanavalin A in Different Cell Types of *Sporothrix schenckii*. *Exp. Mycol* 1, págs. 293-305, 1977.
- ZINK, S., *et al.*, Migration of the fungal pathogen *Candida albicans* across endothelial monolayers. *Infect Immun.* 64, págs. 5085-5091, 1996.