

Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas

Genome of *Candida albicans* and drug resistance

Sandra Cruz Quintana¹, Pedro Díaz Sjoström², Gloria Mazón Baldeón¹, Dunier Arias Socarrás¹, María Calderón Paz¹, Angélica Herrera Molina¹

Resumen

Candida albicans es un importante patógeno fúngico en los humanos tanto por su importancia clínica como por su uso como un modelo experimental para la investigación científica. La comprensión de la biología de este patógeno es un requisito importante para la identificación de nuevas dianas de medicamentos para la terapia antifúngica. En esta revisión nos proponemos profundizar en las características del genoma de *Candida albicans*, su relación con la virulencia y cómo influye en la resistencia a las drogas antifúngicas, que nos permita comprender los mecanismos por los cuales ejerce su acción patógena y desarrollar otros enfoques en la búsqueda de nuevos antifúngicos. La revisión se realizó a través de los buscadores y plataformas HINARI, SciELO y MEDLINE. Se revisaron 40 revistas de impacto de la Web of Science relacionadas con el tema. Los descriptores empleados fueron: "genome of *Candida albicans*", "drug resistance genes", "dimorphism", "virulence" y la combinación entre ellos y sus equivalentes en español. El análisis de los genomas fúngicos hace posible predecir el rol de genes con potencial terapéutico, con la secuenciación del genoma de *Candida albicans* ha aumentado la información sobre la función de los genes, entre los que destacan los posibles objetivos farmacológicos. El estudio del genoma de *Candida albicans* resulta imprescindible para diseñar en el futuro protocolos diagnósticos seguros, así como hallar nuevas dianas antifúngicas que permitan formular terapias más efectivas.

Palabras clave: biopelícula, genoma, genes, epidemiología molecular, virulencia.

Abstract

Candida albicans is an important fungal pathogen in humans both for its clinical importance and its use as an experimental model for scientific research. Understanding the biology of this pathogen is an important requirement for the identification of new drug targets for antifungal therapy. In this review, we propose to delve into the characteristics of the genome of *Candida*

Fecha de recepción: 25 de junio de 2017
Fecha de aceptación: 12 de julio de 2017

¹ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo. Ave. Antonio José de Sucre, km 1.5, Riobamba, Ecuador.

² Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

Correspondencia: Sandra Margarita Cruz Quintana, Ave. Lizarzaburu y Río Upano, Riobamba, Ecuador. Teléfono. 0999024968. scruz@unach.edu.ec

albicans, its relation to virulence and how it influences resistance to antifungal drugs, allowing us to understand the mechanisms by which it exerts its pathogenic action and to develop other approaches in the Search for new antifungals. The review was carried out through the HINARI, SciELO and MEDLINE search engines and platforms. We reviewed 40 Web of Science impact journals related to the topic. The descriptors employed were: "genome of *Candida albicans*", "drug resistance genes", "dimorphism", "virulence" and the combination between them and their equivalents in Spanish. Analysis of fungal genomes makes it possible to predict the role of genes with therapeutic potential, with sequencing of the genome of *Candida albicans* has increased information on the function of genes, among which stand out possible pharmacological targets-specific virulence. The study of the genome of *Candida albicans* is essential for the future design of safe diagnostic protocols, as well as finding new antifungal targets to formulate more effective therapies.

Keywords: biofilm, drugs, genome, genes, molecular epidemiology, yeast.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas las infecciones producidas por hongos están siendo cada vez más reconocidas como una importante amenaza para la salud de la población, principalmente de pacientes comprometidos inmunológicamente (1).

Candida albicans es un importante patógeno fúngico en los humanos, tanto en términos de su importancia clínica como de su uso como un modelo experimental para la investigación científica. La comprensión de la biología de este patógeno es un requisito importante para la identificación de nuevas dianas de medicamentos para la terapia antifúngica. *Candida albicans* es el hongo patógeno humano más estudiado y también sirve como un organismo modelo para el estudio de otros patógenos fúngicos más desafiantes experimentalmente (2). Es conocida por ser un hongo oportunista en el entorno de cualquier tipo de organismo vivo, es un modulador de pH en el *biofilm* y no se considera como un cariogénico, pero uno de sus hábitats es la cavidad oral de los seres humanos (3).

Candida albicans coloniza de manera asintomática diversas partes del cuerpo, específicamente los tractos gastrointestinal y genitourinario de personas sanas (4). Es un hongo comensal, sin

embargo, en individuos inmunocomprometidos es un posible patógeno oportunista que es capaz de causar infecciones de las mucosas y sistémicas (5). Es un microorganismo aerobio y se reproduce asexualmente por gemación. La transición entre la forma de crecimiento de levadura a hifa es importante para desarrollar su patogenicidad; las hifas tan solo se reproducen en el momento de la invasión a los tejidos; existen numerosos estímulos ambientales que desencadenan o bloquean su conversión; por ejemplo, en un pH bajo inferior a 6 este microorganismo crece en la forma de levadura, mientras que en un pH alto superior a 7 crece en forma de hifa (6).

En taxonomía fúngica *Candida albicans* se coloca en el Phylum Ascomycota, orden Endomycetales, a la que también pertenece la familia *Saccharomycetaceae*, aunque *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* están separados por 140-850 millones de años de evolución (7).

En 1996 el Centro de Tecnología de Stanford, Genome, llevó a cabo la secuenciación del genoma de *Candida albicans* con la financiación proporcionada por el Fondo Burroughs Wellcome y el Instituto Nacional de Investigación Dental y Craneofacial. La secuenciación se completó en 2004 y subse-

cuentemente se secuenciaron los genomas de otras especies de *Candida* de interés médico, lo que ha cambiado profunda e irreversiblemente los modos de estudiar las especies de *Candida*.

El genoma de *Candida albicans* es altamente dinámico, y esta variabilidad ha sido usada ventajosamente en estudios epidemiológicos moleculares y de población en esta especie (8).

La base de datos del Genoma de *Candida* (CGD, <http://www.candidagenome.org/>) es un recurso en línea de libre acceso que proporciona la información genética, de proteínas y la secuencia, para múltiples especies de *Candida*, junto con herramientas web para acceder, analizar y explorar estos datos. La misión de esta base de datos es facilitar y acelerar la investigación de la patogénesis y la biología de *Candida* (9). PathoYeasttract (<http://pathoyeasttract.org>) es una herramienta para el análisis y la predicción de las asociaciones de reguladores de la transcripción de genes en el nivel genómico y en las levaduras patógenas *Candida albicans* y *C. glabrata*, esta proporciona instrumentos simples para la predicción de genes y la regulación genómica basados en asociaciones reguladoras de ortólogos descritos para otras especies de levaduras, una configuración de la genómica comparativa para el estudio de la evolución de las especies (10).

En esta revisión nos proponemos profundizar en las características del genoma de *Candida albicans*, su relación con la virulencia y cómo influye en la resistencia a las drogas antifúngicas, que nos permita comprender los mecanismos por los cuales ejerce su acción patógena y desarrollar otros enfoques en la búsqueda de nuevos antifúngicos.

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión bibliográfica de septiembre a diciembre de 2016 sobre las características del genoma de *Candida albicans* que influyen en el aumento de la virulencia y la resistencia a las drogas antifúngicas. Los criterios de inclusión en la búsqueda fueron: características del genoma de *Candida albicans*, genes de resistencia a las drogas, genoma, virulencia y resistencia a las drogas en *Candida albicans*.

La revisión se realizó a través de los buscadores y plataformas HINARI, SciELO y MEDLINE. Se revisaron 40 revistas de impacto de la Web of Science relacionadas con el tema. Los descriptores empleados fueron: “genome of *Candida albicans*”, “drug resistance genes”, “dimorphism”, “virulence” y la combinación entre ellos y sus equivalentes en español. Los idiomas de los artículos revisados estuvieron representados fundamentalmente por el inglés.

El resultado de la búsqueda arrojó un aproximado de 319 artículos, que fueron analizados y filtrados por el autor con el propósito de conservar solo los que trataron las temáticas específicas incluidas en los criterios de la investigación. De esta manera, el estudio se circunscribió a 59 publicaciones científicas. Para procesar la información se confeccionó una base de datos en Excel y se importó a Statistica para Windows versión 8.0, donde se agruparon los artículos revisados y se procesaron según la revista científica de origen y el año de publicación.

RESULTADOS

En la era postgenómica se utilizan numerosas técnicas que van desde la genómica comparativa y el perfil transcripcional hasta la construcción de un gen completo para estudiar la biología de *Candida albicans*. Un mayor acceso a estas tecnologías reduce los costos y proporciona métodos más completos para analizar los resultados y se espera que se traduzca en un mayor uso de estos enfoques (11).

Según Wisplinghoff (12), las especies de *Candida* son reconocidas como la cuarta causa más común de infecciones nosocomiales, y Denning (13) plantea que la candidiasis es responsable de más de 400 000 infecciones potencialmente mortales en todo el mundo cada año; además considera que los altos niveles de mortalidad de estas infecciones se atribuyen generalmente a la capacidad de estas levaduras patógenas para desarrollar eficientemente resistencia a múltiples fármacos, por tolerar los mecanismos de defensa del huésped, por mantener una capacidad proliferativa alta, capacidad de repoblación a través de la formación de biopelículas y para activar los genes relacionados con el crecimiento invasivo.

Genómica

Candida albicans es una levadura diploide, con una fase haploide no descubierta hasta el momento y por un largo tiempo fue considerado asexual. Su genoma está organizado en ocho pares de cromosomas, llamados históricamente del 1 al 7 y R, con 32 Mb y contiene en total 12405 ORF's (open reading frames). En 1980 se utilizó la cepa SC5314 para estudios de biología molecular por científicos del E. R. Squibb Company (14). En la tabla 1 se presenta el número y tipos de características

reportadas en Candida Genome Database, por cromosoma (9), lo que evidencia los avances en la genómica de *Candida albicans*.

Estudios actuales han demostrado que el genoma de *Candida albicans* muestra un alto grado de plasticidad. Es importante destacar que la capacidad de *Candida albicans* de someterse a reordenamientos del genoma y su aparente tolerancia a tales cambios puede ser crítico para su supervivencia después de la exposición a las condiciones cambiantes, tales como tratamientos antifúngicos (15,16,17). La estabilidad del genoma requiere la segregación cromosómica precisa y su defecto puede causar daños en el ADN y reordenamientos cromosómicos individuales (18).

Selmecki (19) y colaboradores sugieren que *Candida albicans* y otros patógenos pueden haber evolucionado en sus mecanismos, no solo para tolerar sino también para generar la variación genética a gran escala como medio de adaptación; considerando que la variación genética y su evolución en las interacciones huésped/patógeno y el deterioro de la función inmune contribuyen claramente a la gravedad de infecciones por *Candida albicans*, el hongo debe poseer características que facilitan la transición de un comensal inocuo a un patógeno agresivo. Durante el curso de las infecciones por *Candida albicans* se encuentran diferentes entornos al que debe adaptarse para que pueda crecer y sobrevivir; la asociación de reordenamientos del genoma y fenotipos de colonias es significativa, lo que implica que las variaciones o el número de copias conducen a alteraciones fenotípicas (20). El genoma de *Candida albicans* realiza varios rearrreglos numéricos y estructurales cromosomales, como forma de generar diversidad genética; estas alteraciones realizan cambios en el fenotipo que es una estrategia de adaptación de las levaduras (21).

Candida albicans no es genéticamente manejable en el sentido convencional; su ciclo parasexual es difícil para utilizar en el laboratorio. Por ejemplo, se han construido cerca de 1000 genes mutantes de este organismo diploide (de 6000 genes en total), y muchos de estos mutantes han sido seleccionados por la formación de biopelículas. Otros métodos incluyen técnicas de perfil y proteómica de la transcripción de todo el genoma para identificar los genes y las proteínas que se expresan específicamente en las biopelículas (4). Varias técnicas de manipulación genética están disponibles para permitir enfoques genéticos de gran alcance para la función de los genes en el estudio de *Candida albicans*, incluyendo la interrupción de genes, control de la expresión génica, etiquetado de proteínas, la reintegración de genes y la sobreexpresión de genes (22).

La genética molecular de *Candida albicans* puede facilitar el descubrimiento de agentes antifúngicos y esclarecer los mecanismos de la patogénesis. Sin embargo, la creación de mutantes homocigotos en este organismo diploide sigue siendo un paso lento en el análisis de la función génica (14).

Xiao (23) y colaboradores utilizan estudios de epidemiología molecular para analizar la relación genética e identificar la ruta de transmisión de *Candida albicans*. Métodos tales como electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), Ca3 fingerprinting y multi-locus con la secuenciación de genes ofrecen alta resolución, mayor estabilidad, y han demostrado ser más específicos que los métodos fenotípicos.

Virulencia-resistencia a las drogas

Según Costa (24), las especies de *Candida* son capaces de entender y eludir la adquisición a largo plazo de los fenotipos relacionados con la virulencia y la resistencia a las drogas;

además define la resistencia a múltiples fármacos como la adquisición simultánea de la tolerancia a una variedad de fármacos a través de un cambio genético limitado o incluso solo. Mientras que Redhu (25) describe los diferentes facilitadores de transporte, MFS (Major Facilitator Superfamily), como uno de los contribuyentes más importantes a la resistencia a múltiples fármacos (MDR-Multidrug Resistance) en la levadura; además el papel de las proteínas de la bomba de eflujo ABC (ATP-binding cassette) en el desarrollo de la MDR está bien documentado, mientras que los transportadores de MFS, que también están implicados en la resistencia a fármacos clínicos, no han recibido la debida atención. El análisis computacional del genoma de *Candida albicans* ha identificado 95 supuestos MFS; algunos de estos transportadores están bien caracterizados, pero solo Mdr1 representa un importante transportador de múltiples drogas con un papel en clínica como los azoles (26).

Según Dalal (27), en *Candida albicans* existen genes inducidos por la galactosa (llamados genes GAL) que pueden estar implicados en un aumento de la virulencia del microorganismo, ya que la presencia de niveles bajos de galactosa son una señal para *Candida albicans* para desencadenar una respuesta general que involucra tanto el metabolismo de la galactosa como la inducción de propiedades de virulencia y *Candida albicans* puede utilizar galactosa endógena (o metabolitos derivados de la galactosa) en formas que requieren la inducción de otros genes.

El β -glucano es un polisacárido, componente de la estructura de la pared celular en varios microorganismos, tales como los hongos; es uno de los estimuladores del sistema inmunológico más fuertes conocidos hasta el momento y desempeña un papel eficaz en la protección contra varios agentes infeccio-

sos (28). La pared celular es esencial para la transición de levadura a hifa y le permite a *Candida albicans* invadir los tejidos humanos y evadir el sistema inmune.

Arendrup (29) sugiere que la resistencia adquirida a equinocandina en *Candida albicans* se ha relacionado con alteraciones estructurales de la enzima diana FKS1 (1,3- β -D-glucansintasa), que es esencial para la síntesis de la pared celular, y plantea que las diferencias intrínsecas en FKS1 entre especies de *Candida* pueden explicar por qué el nivel de resistencia depende tanto de la mutación como de la especie y no puede ser fácilmente traducido al nivel de resistencia clínica.

Las principales preocupaciones en la actualidad son el cambio en la epidemiología de *Candida* en especies menos susceptibles a flucanazol combinado con la rápida adquisición de resistencia a la equinocandina.

Recientemente Mitchell et al. (30) demostraron que también en *Candida albicans* los β -1,3-glucanos contribuyen a la resistencia a los azoles. Desde este descubrimiento se ha estudiado la participación de diferentes genes en este proceso; en primer lugar, el gen FKS1, que codifica la β -1,3-glucansintasa y es la diana antifúngica para las equinocandinas, ha demostrado ser necesario para la resistencia, ya que la viabilidad de las células en la biopelícula en una cepa mutante mostró una reducción del 30% en el contenido de β -1,3-glucanos.

Phr1p es el gen responsable de la remodelación del glucano a pH neutro-alcalino y es esencial para la morfogénesis y la virulencia. La ausencia de Phr1p desencadena una respuesta de adaptación destinada a reforzar la pared celular de las hifas y restaurar la homeostasis; lo que pone de manifiesto la flexibilidad de las

células de los hongos en el mantenimiento de la integridad de la pared celular y contribuye a las evaluaciones de remodelación del glucano como un objetivo para la terapia (31).

La adaptación de *Candida albicans* a variaciones de pH parece implicar una interacción entre la actividad dependiente del pH de Phr1p y Phr2p, la expresión de sus genes y estabilidad de la proteína.

El hecho de que la virulencia de *Candida albicans* está estrechamente asociada con la actividad de las proteínas Phr1p-2p da la esperanza de que la búsqueda de inhibidores específicos de estas enzimas puede conducir eventualmente a un diseño de fármacos antifúngicos eficaces y específicos (32).

Czakai (33) y colaboradores describen por primera vez un factor regulador, KLF4 (factor de transcripción), importante en la respuesta del huésped a los hongos y su influencia en la secreción de IL-6 por células dendríticas humanas, por lo tanto este puede ser un regulador clave en las infecciones por hongos.

Cuenca (34) afirma que *Candida albicans* es inherentemente susceptible a todos los fármacos antifúngicos, que se ha reportado monorresistencia a los azoles o equinocandinas y en algunos casos combinado con los azoles y de resistencia a la anfotericina B, pero la resistencia que cubre las tres clases de fármacos es rara y, hasta donde sabemos, no declarada previamente en *Candida albicans*.

La Beauvericina en *Candida albicans* bloquea la transición morfogénica de la levadura a crecimiento filamentoso en respuesta a diversas señales. Estudios realizados en mutantes resistentes a Beauvericina y ensayos bioquímicos y genéticos revelan que la Beauvericina

bloquea el flujo de salida a múltiples fármacos e inhibe la quinasa reguladora de TOR1, activando de este modo la proteína quinasa CK2 e inhibiendo Hsp90. Por lo tanto, la doble orientación de flujo de salida a múltiples fármacos y la señalización TOR proporciona una potente estrategia terapéutica, en términos generales eficaz para el tratamiento de enfermedades infecciosas por hongos que evade la resistencia (35,36).

El fluconazol también induce reordenamientos genómicos que dan lugar a la amplificación de genes y la pérdida de la heterocigosidad por mutaciones, lo que aumenta aun más la resistencia a los fármacos. Estas alteraciones del genoma pueden afectar regiones cromosómicas extendidas y tienen consecuencias fenotípicas adicionales. La comprensión de la resistencia a nivel molecular es esencial para el desarrollo de estrategias para hacerle frente y diseñar nuevos antifúngicos con enfoques moleculares por objetivos. Estos resultados muestran que las drogas mediadas por proteínas de la bomba de eflujo ABC (ATP-binding cassette), especialmente CDR1, son el mecanismo predominante de resistencia al fluconazol y resistencia transversal a los azoles en *Candida albicans* (37, 38).

Los retrotransposones constituyen una parte importante del genoma en una serie de eucariotas. *Candida albicans* tiene 34 familias retrotransposones distintas. Estos son elementos genéticos móviles capaces de hacer transposición independiente a través de productos intermedios de ARN. Por ejemplo, los retrotransposones constituyen 42 % de los genomas humanos y 75 % de los genomas de maíz. Las condiciones de vida adversas pueden activarlos, se pueden mover de un lugar a otro en un genoma por transcripción inversa del ARN para permitir al organismo

adaptarse al entorno. Los retrotransposones han contribuido a la evolución de los genomas y genes en formas que van mucho más allá de simplemente aumentar el tamaño del genoma; también afecta genomas a pequeña escala, como la movilización y la integración en un locus directamente, o la recombinación con el elemento heterotópico indirectamente. Estos cambios conducen a la inactivación de genes, la variación en la capacidad de la transcripción de genes, las deleciones de genes e inversiones.

Ha sido bien documentado que los retrotransposones se movilizarían en respuesta al estrés; además el fenómeno de transposición en cepas que son resistentes al miconazol sugiere que existe una relación entre la virulencia y los retrotransposones (39). Coincidiendo con lo planteado por Jiang (40) y colaboradores, que demuestran la relación entre la resistencia y la virulencia con la transposición inversa en cepas que son resistentes al miconazol.

Estudios de expresión génica realizados por Wilson (41) han identificado una serie de genes que se inducen en la transición de levadura a hifa. Además de su importante papel en la formación de biopelículas, la transición fenotípica de la levadura a formas filamentosas, que puede ocurrir en respuesta a varios estímulos dentro del huésped y también representa un factor de virulencia importante durante la candidiasis (42).

Investigaciones realizadas por Carlisle (43) sugieren que un número significativo de nuevos genes implicados en diferentes procesos son tanto regulados como inducidos en la transición de las hifas a levadura, en un escenario más complejo en el que se pueden requerir patrones específicos de expresión génica para mantener el estado de levadura.

La transición morfológica de *Candida albicans* podría tener una regulación epigenética por modificaciones en la estructura de la cromatina. Las histonas son proteínas que forman parte de la estructura de la cromatina y la pueden regular a través de sus propias modificaciones, como la acetilación, desacetilación, fosforilación y ubiquitinación.

Recientes estudios revelan que varias modificaciones de las histonas, especialmente la acetilación y desacetilación, participan en la transición de *Candida albicans*, colaborando con conocidos factores de transcripción en las vías de señalización (44).

Rpd31 es una histona desacetilasa indispensable para el crecimiento filamentoso y virulencia de *Candida albicans* (45).

La capacidad de *Candida albicans* para cambiar de forma reversible entre la levadura, pseudohifas y morfologías de hifas es ampliamente conocida y es esencial para la patogenicidad en los planos superficiales y sistémicos. La morfogénesis de las hifas se acopla con la virulencia; los genes que controlan la morfología hifal son co-regulados por genes que codifican factores de virulencia. Genes hifa específicos Ume6 y HGC1 son reguladores de la transcripción de las hifas y la morfogénesis. Los niveles de factor de transcripción Ume6 controlan los niveles y la duración de la hifa (46).

Tsai (47) y colaboradores caracterizaron el gen Hom6 y demostraron su participación en la síntesis de proteínas y en la adhesión celular, lo que puede representar un objetivo prometedor para el desarrollo de nuevos antifúngicos.

La transición de levadura a las hifas de *Candida albicans* está vinculada a una serie de propiedades importantes para sus interacciones con el hospedero: adhesión a células

epiteliales y endoteliales; invasión primaria e intercelular a través de endocitosis inducida y la penetración; y escapar de los fagocitos y la evasión inmune (48).

Vías metabólicas y de transducción de señales implicadas

Estudios recientes han logrado avances en el esclarecimiento de las rutas que regulan los procesos directamente implicados en la virulencia en *Candida albicans*, tales como la formación de biopelículas, respuesta de estrés y la adaptación metabólica.

La respuesta al estrés es una función crítica para un patógeno oportunista como *Candida albicans* porque tiene que ser capaz de superar las defensas del huésped para ser virulentos (49). Esto incluye los genes Hsf1 y Hsp90 y el factor de transcripción de choque térmico, respectivamente, la coordinación de la arquitectura de la cromatina y la expresión de genes de respuesta al estrés para permitir la adaptación al huésped mamífero y, potencialmente, la respuesta febril del huésped (50).

La formación de biopelículas representa un componente central de la patogenicidad de *Candida albicans*, como la formación de estas en dispositivos médicos, tales como catéteres, lo que contribuye significativamente al éxito de *Candida albicans* como un patógeno nosocomial (4).

La regulación de la transcripción no es el único proceso que contribuye a su formación, la ruta de la transcripción puede estar conectada a la ruta Hsp90, implicada en múltiples procesos celulares (51). Además, los procesos de post-transcripcionales que controlan la estabilidad del ARN a través de la proteína de unión a ARN, Puf3 y Ccr4 tienen un importante papel en la regulación de la producción de la matriz

y conectan la función mitocondrial con la formación de biopelículas (52).

La adaptación metabólica también juega un papel clave en la capacidad de *Candida albicans* de colonizar diferentes regiones del cuerpo humano y para sobrevivir a interacciones con el sistema inmune del huésped.

La evidencia reciente sobre la ubiquitinación controlada de las enzimas implicadas en el metabolismo de los carbohidratos ha establecido que las diferencias en las enzimas específicas juegan un papel crítico en la distinción de la forma de procesar el azúcar de *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* (53). Estos datos sugieren que *Candida albicans* es mucho más flexible en su uso de fuentes de carbono y que esta flexibilidad le permite explotar variados nichos dentro del huésped mamífero (54).

En *Candida albicans* han sido identificados cuatro vías de señalización MAPK: la vía Mkc1, la vía Cek1, la vía Cek2 y la vía del glicerol de alta osmolaridad (HOG). Por análisis genético y caracterización fenotípica de mutantes, estas vías en *Candida albicans* se han caracterizado ampliamente como implicadas en el crecimiento de las hifas invasivas, la morfogénesis, la biogénesis de la pared celular, el dimorfismo y la respuesta al estrés, lo que sugiere un papel importante en la patogenicidad o virulencia de *Candida albicans*. La acumulación de estos hallazgos apoyan la idea de que las vías de señalización MAPK son esenciales para el mantenimiento de la virulencia de *Candida albicans*. Por lo tanto, los componentes de estas vías pueden ser objetivos para el desarrollo de nuevos antifúngicos (55).

El mantenimiento de la homeostasis del calcio celular es vital para la supervivencia y la patogenicidad de los hongos y las vías de señalización de calcio indican que están estre-

chamente asociados con numerosos procesos fisiológicos en *Candida albicans*, tales como las respuestas a estrés, la virulencia, el desarrollo de las hifas y la adhesión.

El estudio de los mecanismos relacionados con el calcio y la patogenicidad en *Candida albicans* puede ayudar a establecer nuevas medidas de control de la infección (56,57). Una de estas vías de señalización en *Candida albicans* en respuesta a diversos estreses ambientales es a través del canal cch1-Mid1, que activa la calcineurina y su posterior factor de transcripción Crz1p. El canal cch1-Mid1 está fuertemente asociado con la homeostasis del calcio y se encuentra en las membranas celulares de los hongos (58).

Las vías metabólicas de *Candida albicans* y las vías de transducción de señales, procesos relacionados con la invasión y factores de transcripción, se han estudiado ampliamente y son esenciales no solo para el crecimiento de los hongos, sino también para su virulencia (59).

CONCLUSIONES

El análisis de los genomas fúngicos hace posible predecir el rol de genes con potencial terapéutico, pero es necesario profundizar en los mecanismos moleculares por los cuales se produce la resistencia a las drogas antifúngicas. El estudio del genoma de *Candida albicans* resulta imprescindible para diseñar en el futuro protocolos diagnósticos seguros, así como hallar nuevas dianas para antifúngicos que permitan formular terapias más efectivas que generen mejores respuestas por parte del paciente.

Con la secuenciación del genoma de *Candida albicans* ha aumentado la información sobre la función de los genes, entre los que destacan los posibles objetivos farmacológicos.

Conflicto de interés: ninguno.

Financiación: recursos propios.

REFERENCIAS

1. Brown GD, Denning DW, Gow NA et al. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med*. Dec 2012;4(165):165rv13.
2. Kabir MA, Hussain MA, Ahmad Z. *Candida albicans*: a model organism for studying fungal pathogens. *ISRN Microbiol*. 2012:1-12.
3. Willems HM, Kos K, Jabra MA, Krom BP. *Candida albicans* in oral biofilms could prevent caries. *Pathog Dis*. Jul 2016;74(5): pii: ftw039. doi: 10.1093/femspd/ftw039.
4. Nobile CJ, Johnson, AD . *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol*. 2015;69:71-92. doi: 10.1146/annurev-micro-091014-104330.
5. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the Human Mouth: A Sticky Situation. Heitman J, ed. *PLoS Pathogens*. 2013;9(10):e1003616. doi:10.1371/journal.ppat.1003616.
6. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119-128. doi:10.4161/viru.22913.
7. Baker CR, Tuch BB, Johnson AD. Extensive DNA-binding specificity divergence of a conserved transcription regulator. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011;108:7493-7498.
8. d'Enfert C, Hube B. (eds.). *Candida*: comparative and functional genomics. *Horizon Scientific Press*; 2007.
9. Skrzypek MS, Binkley J, Binkley G, Miyasato SR, Simison M, Sherlock G. The *Candida* Genome Database (CGD): incorporation of Assembly 22, systematic identifiers and visualization of high throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res*. Oct 2016. doi: 10.1093/nar/gkw924.
10. Monteiro PT, Pais P, Costa C, Manna S, Sá-Correia I, Teixeira MC. The PathoYeast database: an information system for the analysis of gene and genomic transcription regulation in pathogenic yeasts. *Nucleic Acids Res*. Sep 2016. pii: gkw817.
11. Anderson MZ, Bennett RJ. Budding off: bringing functional genomics to *Candida albicans*. *Brief Funct Genomics*. Mar 2016;15(2):85-94. doi: 10.1093/bfpg/elv035.
12. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clin Infect Dis*. 2004; 39 (3): 309-317. doi:10.1086/421946.
13. Denning DW, Bromley MJ. How to bolster the antifungal pipeline. *Science*. Mar 2015;347(6229):1414-6. doi: 10.1126/science.aaa6097.
14. Min K, Ichikawa Y, Woolford CA, Mitchell AP. *Candida albicans* Gene Deletion with a Transient CRISPR-Cas9 System. Imperiale MJ, ed. *mSphere*. 2016;1(3):e00130-16. doi:10.1128/mSphere.00130-16.
15. Hickman MA, Zeng G, Forche A, Hirakawa MP, Abbey D, Harrison BD et al. The 'obligate diploid' *Candida albicans* forms mating-competent haploids. *Nature*. 2013;494(7435):55-59. doi:10.1038/nature11865.
16. Hirakawa MP, Martínez DA, Sakthikumar S, Anderson MZ, Berlin A, Guja S et al. Genetic and phenotypic intra-species variation in *Candida albicans*. *Genome Res*. 2015;25:413-425. doi:10.1101/gr.174623.114.
17. Ford CB, Funt JM, Abbey D, Issi L, Guiducci C, Martínez DA, et al. The evolution of drug resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. Dermitzakis ET, ed. *eLife*. 2015;4:e00662. doi:10.7554/eLife.00662.
18. Cheeseman IM. The Kinetochore. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2014;6(7):a015826. doi:10.1101/cshperspect.a015826.
19. Selmecki A, Forche A, Berman J. Genomic Plasticity of the Human Fungal Pathogen *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*. 2010;9(7):991-1008. doi:10.1128/EC.00060-10.
20. Jensen RH. Resistance in human pathogenic yeasts and filamentous fungi: prevalence, underlying molecular mechanisms and link

- to the use of antifungals in humans and the environment. *Dan Med J*. Oct 2016;63(10). pii: B5288.
21. Tsai PW, Chien CY, Yeh YC, Tung L, Chen HF, Chang TH et al. *Candida albicans* Hom6 is a homoserine dehydrogenase involved in protein synthesis and cell adhesion. *J Microbiol Immunol Infect*. Mar 312016. pii: S1684-1182(16)30022-6. doi: 10.1016/j.jmii.2016.03.001.
 22. Xu N, Liang Y, Cheng X, Qian K, Yu Q, Li M. Characterization of *Candida albicans* ferric reductase genes in response to environmental stresses. *Wei Sheng Wu Xue Bao*. Oct 2014;54(10):1185-92.
 23. Xiao J, Moon Y, Li L, Rustchenko E, Wakabayashi H, Zhao X et al. *Candida albicans* Carriage in Children with Severe Early Childhood Caries (S-ECC) and Maternal Relatedness. Nascimento M, ed. *PLoS ONE*. 2016;11(10):e0164242. doi:10.1371/journal.pone.0164242.
 24. Costa C, Díaz PJ, Sá-Correia I, Teixeira MC. MFS multidrug transporters in pathogenic fungi: do they have real clinical impact? *Front Physiol*. May 2014 28;5:197. doi: 10.3389/fphys.2014.00197.
 25. Redhu KA, Shah AH, Prasad R. MFS transporters of *Candida* species and their role in clinical drug resistance. *FEMS Yeast Res*. Jun 2016;16(4). pii: fow043. doi: 10.1093/femsyr/fow043.
 26. Shah AH, Singh A, Dhamgaye S, Chauhan N, Vandeputte P, Suneetha KJ et al. Novel role of a family of major facilitator transporters in biofilm development and virulence of *Candida albicans*. *Biochem J*. 2014;460:223-235. doi:10.1042/BJ20140010.
 27. Dalal CK, Zuleta IA, Mitchell KF, Andes DR, El-Samad H, Johnson AD. Transcriptional rewiring over evolutionary timescales changes quantitative and qualitative properties of gene expression. Barkai N, ed. *eLife*. 2016;5:e18981. doi:10.7554/eLife.18981.
 28. Lull C, Wichers HJ, Savelkoul HFJ. Anti-inflammatory and Immunomodulating Properties of Fungal Metabolites. *Mediators Inflamm*. 2005(2):63-80. doi:10.1155/MI.2005.63.
 29. Arendrup MC, Perlin DS. Echinocandin resistance: an emerging clinical problem? *Curr Opin Infect Dis*. Dec 2014; 27(6): 484-492. doi: 10.1097/QCO.0000000000000111.
 30. Mitchell KF, Taff HT, Cuevas MA, Reinicke EL, Sanchez H, Andes DR. Role of Matrix β -1,3 Glucan in Antifungal Resistance of Non-*albicans* *Candida* Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013;57(4):1918-1920. doi:10.1128/AAC.02378-12.
 31. Degani G, Ragni E, Botias P et al. Genomic and functional analyses unveil the response to hyphal wall stress in *Candida albicans* cells lacking β (1,3)-glucan remodeling. *BMC Genomics*. 2016;17:482. doi:10.1186/s12864-016-2853-5.
 32. Kováčová K, Degani G, Stratilova E, Farkaš V, Popolo L. Catalytic properties of Phr family members of cell wall glucan remodeling enzymes: implications for the adaptation of *Candida albicans* to ambient pH. *FEMS Yeast Res*. Mar 2015;15(2). doi: 10.1093/femsyr/fou011.
 33. Czakai K, Leonhardt I, Dix A, Bonin M, Linde J, Einsele H et al. Krüppel-like Factor 4 modulates interleukin-6 release in human dendritic cells after in vitro stimulation with *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. *Scientific Reports*. 2016;6:27990. doi:10.1038/srep27990.
 34. Cuenca-Estrella M. Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi: from bench to bedside. *Clin Microbiol Infect*. Jun 2014;20 Suppl 6:54-9. doi: 10.1111/1469-0691.12495.
 35. Shekhar-Guturja T, Gunaherath GM, Wijeratne EM, Lambert JP, Averette AF, Lee SC et al. Dual action antifungal small molecule modulates multidrug efflux and TOR signaling. *Nat Chem Biol*. Oct 2016;12(10):867-75. doi: 10.1038/nchembio.2165.
 36. Lu Y, Su C, Liu H. *Candida albicans* hyphal initiation and elongation. *Trends Microbiol*. 2014;22(12):707-714. doi:10.1016/j.tim.2014.09.001.

37. Morschhäuser J. The development of fluconazole resistance in *Candida albicans* - an example of microevolution of a fungal pathogen. *J Microbiol.* Mar 2016;54(3):192-201. doi: 10.1007/s12275-016-5628-4.
38. Mane A, Vidhate P, Kusro C, Waman V, Saxena V, Kulkarni-Kale U et al. Molecular mechanisms associated with Fluconazole resistance in clinical *Candida albicans* isolates from India. *Mycoses.* Feb 2016;59(2):93-100. doi: 10.1111/myc.12439.
39. Zhang L, Yan L, Jiang J, Wang Y, Jiang Y, Yan T et al. The structure and retrotransposition mechanism of LTR-retrotransposons in the asexual yeast *Candida albicans*. *Virulence.* 2014; 5 (6): 655-664. doi: 10.4161 / viru.32180.
40. Jiang J, Zhao L, Yan L, Zhang L, Cao Y, Wang Y et al. Structural features and mechanism of translocation of non-LTR retrotransposons in *Candida albicans*. *Virulence.* 2014;5(2):245-252. doi:10.4161/viru.27278.
41. Wilson D, Thewes S, Zakikhany K, Fradin C, Albrecht A, Almeida R et al. Identifying infection-associated genes of *Candida albicans* in the postgenomic era. *FEMS Yeast Res.* 2009;9(5):688-700. doi: 10.1111/j.1567-1364.2009.00524.x.
42. Saville SP, Lazzell AL, Monteagudo C, Lopez-Ribot JL. Engineered Control of Cell Morphology In Vivo Reveals Distinct Roles for Yeast and Filamentous Forms of *Candida albicans* during Infection. *Eukaryotic Cell.* 2013;2(5):1053-1060. doi:10.1128/EC.2.5.1053-1060.
43. Carlisle PL, Kadosh D. A genome-wide transcriptional analysis of morphology determination in *Candida albicans*. Boone C, ed. *Molecular Biology of the Cell.* 2013;24(3):246-260. doi:10.1091/mbc.E12-01-0065.
44. Caudle KE, Barker KS, Wiederhold NP, Xu L, Homayouni R, Rogers PD. Genomewide Expression Profile Analysis of the *Candida glabrata* Pdr1 Regulon. *Eukaryotic Cell.* 2011;10(3):373-383. doi:10.1128/EC.00073-10.
45. Kim J, Lee JE, Lee JS. Histone deacetylase-mediated morphological transition in *Candida albicans*. *J Microbiol.* Dec 2015;53(12):805-11. doi: 10.1007/s12275-015-5488-3.
46. Lee JE, Oh JH, Ku M, Kim J, Lee JS, Kang SO. Ssn6 has dual roles in *Candida albicans* filament development through the interaction with Rpd31. *FEBS Lett.* Feb 2015 13;589(4):513-20. doi: 10.1016/j.febslet.2015.01.011.
47. Lu Y, Su C, Liu H. *Candida albicans* hyphal initiation and elongation. *Trends Microbiol.* 2014;22(12):707-714. doi:10.1016/j.tim.2014.09.001.
48. Tsai PW, Chien CY, Yeh YC, Tung L, Chen HF, Chang TH et al. *Candida albicans* Hom6 is a homoserine dehydrogenase involved in protein synthesis and cell adhesion. *J Microbiol Immunol Infect.* Mar 31 2016. pii: S1684-1182(16)30022-6. doi: 10.1016/j.jmii.2016.03.001.
49. Pierce CG, Lopez-Ribot JL. Candidiasis drug discovery and development: new approaches targeting virulence for discovering and identifying new drugs. *Expert opinion on drug discovery.* 2013;8(9):1117-1126. doi:10.1517/17460441.2013.807245.
50. O'Meara TR, Cowen LE. Hsp90-dependent regulatory circuitry controlling temperature-dependent fungal development and virulence. *Cell Microbiol.* 2014;16(4):473-81. doi:10.1111/cmi.12266.
51. Leach MD, Farrer RA, Tan K et al. Hsf1 and Hsp90 orchestrate temperature-dependent global transcriptional remodelling and chromatin architecture in *Candida albicans*. *Nat Commun.* 2016;7:11704. doi:10.1038/ncomms11704.
52. Diezmann S, Leach MD, Cowen LE. Functional Divergence of Hsp90 Genetic Interactions in Biofilm and Planktonic Cellular States. *PLoS ONE.* 2015;10(9):e0137947. doi:10.1371/journal.pone.0137947.
53. Verma-Gaur J, Qu Y, Harrison PF, et al. Integration of Posttranscriptional Gene Networks into Metabolic Adaptation and Biofilm Maturation in *Candida albicans*. *PLoS Genet.* 2015;11(10):e1005590. doi:10.1371/journal.pgen.1005590.

54. Childers DS, Raziunaite I, Mol Avelar G, Mackie J, Budge S, Stead D et al. The Rewiring of Ubiquitination Targets in a Pathogenic Yeast Promotes Metabolic Flexibility, Host Colonization and Virulence. Cramer RA, ed. *PLoS Pathogens*. 2016;12(4):e1005566. doi:10.1371/journal.ppat.1005566.
55. Sellam A, Whiteway M. Recent advances on *Candida albicans* biology and virulence. *F1000Research*. 2016;5:2582. doi:10.12688/f1000research.9617.1.
56. Paul S, Moye-Rowley WS. Multidrug resistance in fungi: regulation of transporter-encoding gene expression. *Front Physiol*. 2014;5:143. doi:10.3389/fphys.2014.00143.
57. Wang H, Lu G, Yang B, Wang F, Yu Q, Xu N et al. Effect of CCH1 or MID1 gene disruption on drug tolerance and pathogenesis of *Candida albicans*. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. Jun 2012;28(6):726-36.
58. Yu Q, Wang H, Xu N, Cheng X, Wang Y, Zhang B, Xing L, Li M. Spfl strongly influences calcium homeostasis, hyphal development, biofilm formation and virulence in *Candida albicans*. *Microbiology*. 2012;158:2272–2282. doi:10.1099/mic.0.057232-0.
59. Liu S, Hou Y, Liu W, Lu C, Wang W, Sun S. Components of the calcium-calcineurin signaling pathway in fungal cells and their potential as antifungal targets. *Eukaryot Cell*. 2015;14:324–334. doi:10.1128/EC.00271-14.