

OFERTA TESIS DOCTORAL

ÁREA DE TRABAJO: MICROBIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR, INTERACCIÓN HOSPEDADOR-PATÓGENO BACTERIANO, PATOGENESIS BACTERIANA

TEMA DE TRABAJO: Glicómica funcional aplicada a la identificación de dianas profilácticas/terapéuticas frente a infecciones respiratorias bacterianas ligadas al tabaquismo

INVESTIGADOR RESPONSABLE: DRA. JUNCAL GARMENDIA GARCÍA, juncal.garmendia@unavarra.es

LUGAR: INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA, UPNA-CSIC, <http://www.agrobiotecnologia.es>
CAMPUS DE ARROSADÍA S/N, 31192 MUTILVA BAJA, NAVARRA, ESPAÑA

La nasofaringe está colonizada por microorganismos que, además de constituir la microflora del tracto respiratorio, son patógenos oportunistas. *Haemophilus influenzae* no tipable (HiNT) es una bacteria Gram negativa, colonizador asintomático en individuos sanos, y patógeno oportunista causante de otitis, sinusitis, laringitis, bronquitis y neumonía. Si bien el pulmón es estéril gracias a la inmunidad del huésped, la exposición continuada a contaminantes como el **tabaco** altera los mecanismos defensivos, permitiendo la llegada y colonización del tracto respiratorio inferior por patógenos. El tabaco también causa la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obstrucción irreversible de las vías aéreas que tiene como aspecto fisiopatológico relevante la **colonización persistente** del tracto respiratorio inferior. HiNT es el patógeno más frecuentemente aislado del pulmón de enfermos con patologías asociadas al tabaquismo.

HiNT presenta características que favorecen su adaptación al hospedador: (i) elevada **variabilidad genética** entre aislados clínicos; (ii) exposición simultánea de **múltiples adhesinas** en superficie; (iii) exposición de **carbohidratos en superficie**, que son ligandos de lectinas eucariotas. HiNT presenta en superficie la molécula de lipooligosacárido (LOS); LOS contiene lípido A, KDO y tres heptosas a partir de las cuales se extienden cadenas de varios oligosacáridos no repetidos en distintas combinaciones, con un repertorio de sustituciones variable entre cepas. Las etapas iniciales de la colonización del tracto respiratorio por HiNT implican la **adhesión** del patógeno a la mucosa respiratoria. El epitelio respiratorio está revestido por carbohidratos unidos covalentemente a proteínas y lípidos *carrier*. HiNT debe por tanto presentar estructuras de superficie que actúan como lectinas microbianas, jugando un papel esencial en la interacción del microorganismo con carbohidratos de la superficie eucariota. La naturaleza y características de las interacciones carbohidrato bacteriano-lectina eucariota y carbohidrato eucariota-lectina bacteriana, así como las implicaciones clínicas de las mismas, son aspectos desconocidos de la infección por HiNT.

Objetivo general: Identificación de carbohidratos y lectinas de origen eucariota y bacteriano implicados en la colonización del epitelio respiratorio por HiNT.

Objetivos específicos:

1. Determinación del patrón de unión a carbohidratos del hospedador presentado por HiNT. Se realizará mediante la utilización de un *microarray* de carbohidratos.
2. Determinación de la contribución relativa de carbohidratos bacterianos en superficie a la interacción de HiNT con lectinas eucariotas.
 - 2.1. Colección de mutantes en genes que codifican enzimas implicadas en la síntesis de LOS. Cultivos bacterianos de mutantes carentes de los genes *lic1BC*, *lic2A*, *siaB*, *opsX*, *lgtF* o *lpsA* serán fijados, conjugados a los fluorocromos correspondientes, y empleados como sondas en *arrays* que serán hibridados con lectinas eucariotas seleccionadas (colección de galectinas).
 - 2.2. Aislados clínicos seleccionados a partir de colección disponible. Cultivos bacterianos de los aislados seleccionados serán fijados, conjugados a los fluorocromos correspondientes, y empleados como sondas en *arrays* que serán hibridados con lectinas eucariotas (colección de galectinas). Alternativamente, los *arrays* serán impresos con una colección amplia de glicoconjugados e hibridados con los aislados bacterianos de interés.

Explotación de los resultados:

Utilización de carbohidratos como base de una terapia anti-adhesiva, como estrategia de prevención de la colonización por HiNT, o como estrategia de despegue del mismo del epitelio respiratorio en etapas iniciales de la infección. Se realizarán experimentos de inhibición mediante (i) *microarrays* de carbohidratos y (ii) un modelo de infección utilizando células epiteliales en cultivo.

La exploración del uso de carbohidratos como terapia anti-adhesiva frente a infecciones bacterianas se fundamenta en el aumento alarmante de patógenos resistentes a antibióticos. La adhesión bacteriana a los tejidos del hospedador es mediada por adhesinas de la superficie bacteriana y puede inhibirse mediante la utilización de carbohidratos reconocidos específicamente por dichas adhesinas. Desde un punto de vista farmacológico, este tipo de intervención terapéutica se considera moderada, además de más ecológica y segura que los tratamientos quimioterapéuticos.

Publicaciones relacionadas:

(i) Martí-Lliteras, Regueiro, Morey P., Hood, Saus, Saulea, Agustí, Bengoechea, Garmendia. Nontypeable *Haemophilus influenzae* clearance by alveolar macrophages is impaired by exposure to cigarette smoke. *Infection and Immunity*, (2009) 77:4232-42; (ii) Regueiro, Campos, Morey, Saulea, Agustí, Garmendia, Bengoechea. Levels of lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 are increased in the bronchoalveolar lavage fluid of cigarette smokers and COPD patients. *European Respiratory J*, (2009) 33: 273-281