

PARTICIPACIÓN DE LA SUBUNIDAD $G\alpha$ DE PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS EN LOS PROCESOS DE VIRULENCIA Y PATOGENICIDAD DE LOS HONGOS*

Edith Sánchez Paredes¹, Rocío Alcántara Hernández² y M Eugenia Torres Marquez³

RESUMEN

Las proteínas G heterotriméricas actúan como moléculas transductoras de señales entre el receptor membranal y las proteínas efectoras. En los hongos éstas desempeñan un papel crucial durante el apareamiento y la patogénesis. Las proteínas G intervienen además en procesos de desarrollo y morfogénesis, los cuales determinan su virulencia en plantas y animales. En esta revisión se describen algunos de los hallazgos que han llevado a identificar los genes y las funciones específicas de las subunidades G dentro de las rutas de señalización participantes en los procesos de virulencia y patogénesis de algunas especies fúngicas.

PALABRAS CLAVE: Proteínas G, hongos, vías de señalización, patogenicidad.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas G heterotriméricas reciben este nombre debido a su capacidad de unir nucleótidos de guanina y porque están constituidas de tres diferentes subunidades $G\alpha$, $G\beta$ y $G\gamma$ siendo $G\alpha$ el componente de unión a los nucleótidos. Las proteínas G heterotriméricas originalmente se postularon en la señalización transmembranal por el requerimiento de GTP para la activación hormonal de la adenilato ciclasa (AC). Estas proteínas se encuentran acopladas a receptores serpentina, denominados así por que contienen 7 dominios de aminoácidos hidrofóbicos que atraviesan la membrana citoplasmática. El

extremo carboxilo terminal, la segunda y la tercera asa citoplasmática del receptor interaccionan con la subunidad $G\alpha$ una vez que es activado por su agonista. Estas señales son transmitidas por medio de rutas de señalización para producir respuestas específicas, tales como, la inducción o inhibición de la transcripción de genes, fosforilación de proteínas o reorganización del citoesqueleto entre muchas otras (1).

En resumen, los sistemas de señalización mediados por proteínas G consisten de un receptor, una proteína G heterotrimérica (transductor) y un efector. Cada uno de estos elementos se regula independientemente por

otras proteínas, mediadores solubles o a nivel transcripcional.

En los hongos las proteínas G tienen una participación importante en procesos de reproducción sexual e incluso son factores que determinan su virulencia (2). El propósito de esta revisión es mostrar la función que desempeñan la subunidad $G\alpha$ de la proteína G heterotrimérica en la virulencia de estos organismos.

Estructura de las proteínas G

Las proteínas G heterotriméricas consisten de una subunidad $G\alpha$, una subunidad $G\beta$ y una subunidad $G\gamma$; se han descrito varios tipos de modificaciones pos-traduccionales para cada

ABSTRACT

Heterotrimeric G proteins function as signal transduction molecules between membrane receptors and effectors. In fungi, they play a crucial role in mating and pathogenesis. Furthermore G proteins participate in some development and morphogenesis processes, which determine their virulence in plant and animals. In this review some findings that shed light on identifying the genes and functions of G proteins within signalling pathways participating on virulence and pathogenesis of some fungi are described.

KEY WORDS: G proteins, fungi, signalling pathways, pathogenicity.

*Recibido: 6 de junio de 2006 Aceptado: 8 de mayo de 2007

Departamentos de ¹Genética Molecular y ²Biología Celular, Instituto de Fisiología Celular y ³Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 04510. Correo E: eparedes@ifc.unam.mx

una de las subunidades de las proteínas G que parecen estar involucradas en la regulación de la señal. Todas las subunidades G α son miristoiladas y/o palmitoiladas. La miristoilación implica la adición co-traducciona de un ácido graso saturado de 14 carbonos a través de una unión amida en un residuo de glicina en el N-terminal, mientras que la palmitoilación se refiere a la adición de un ácido graso saturado de 16 carbonos a través de una unión tioéster en un residuo de cisteína. La subunidad G β es fosforilada en varios sitios, después de la estimulación con la feromona y algunas subunidades G γ son isopreniladas, esta modificación involucra la unión de un grupo farnesil o un isoprenoide geranil-geranil de 20 carbonos a un residuo de cisteína del carboxilo terminal. En *Saccharomyces cerevisiae*, la subunidad G γ (Ste18) además de ser farnesilada también es palmitoilada (1-3).

La subunidad G α , presenta dos dominios importantes, un dominio de GTPasa y un dominio helicoidal, siendo este último único para las proteínas G heterotriméricas. El dominio helicoidal es el dominio más divergente entre la familia de las G α y juega un papel importante en la especificidad y en el acoplamiento receptor-proteína G-efector (1). Existen tres regiones dentro del dominio de GTPasa, denominadas región I, II y III, las cuales son conformacionalmente sensibles al intercambio de los nucleótidos de guanina (GDP o GTP). Cuando el receptor activa a la proteína G, la subunidad G α libera GDP y une GTP, es en este estado activado que pueden actuar directamente sobre moléculas efectoras (1).

La subunidad G β pertenece a la gran familia de proteínas WD40, estas proteínas están caracterizadas por la presencia de repeticiones que consisten entre 40 y 60 aminoácidos con dos secuencias dipeptídicas internas conservadas, glicina-histidina (GH) y triptofano-ácido aspártico (WD); de

acuerdo a la estructura de cristal de G, se predice que tiene una estructura de β -propela. La subunidad G γ es la más pequeña de las tres subunidades, tienen un tamaño de 67-74 aminoácidos y la mayoría de las 12 subunidades identificadas están conservadas en diferentes especies de vertebrados. Las diferencias radican principalmente en el extremo amino terminal, lo cual sugiere que podría tratarse de un sitio funcional diferente para cada especie. Todas las subunidades G γ son isopreniladas en el extremo carboxilo-terminal, esta subunidad interactúa con la subunidad G β a través del extremo amino-terminal. El dímero G $\beta\gamma$ se une a una zona hidrofóbica presente en G α -GDP, la unión de GTP reduce la afinidad de G α por G $\beta\gamma$ y por lo tanto el trímero se disocia (1). El esquema del ciclo de la proteína G e información general sobre esta se reportó ya en un número previo de esta revista (4).

Señalización de proteínas G en hongos

Las células fúngicas detectan diferentes señales del medio ambiente tales como: temperatura, nutrientes, osmolaridad, pH o luz, entre otras. Además también distinguen la presencia de células del tipo celular opuesto mediante el reconocimiento de feromonas sexo-específicas. De manera similar la patogénesis fúngica depende de señales que les permiten el reconocimiento de su hospedero animal o vegetal (2).

Se han identificado varias proteínas G en diversas especies de hongos y se ha observado que participan en el apareamiento y el desarrollo patogénico. Se han descrito alrededor de 24 genes que codifican para subunidades G α de diferentes hongos, varios de estos por hibridación de ADN con sondas heterólogas a partir de regiones conservadas de las secuencias de G α ya conocidas (5, 6).

El modelo de proteína G que más

se ha estudiado en hongos es el de *S. cerevisiae*, en procesos como: el apareamiento, el crecimiento filamentoso y la respuesta a estrés osmótico; procesos que a su vez están involucrados en el desarrollo de la patogenicidad en otros hongos. A continuación se describe de manera general el sistema de respuesta a feromona de esta levadura, que nos servirá de base para describir los otros procesos.

Mecanismo de activación de la proteína G en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae es un hongo levaduriforme, clasificado dentro del grupo de los Ascomycetos y se ha utilizado ampliamente como modelo para estudios genéticos y fisiológicos.

S. cerevisiae presenta dos diferentes tipos celulares haploides (a y α) y cada uno de ellos secreta una feromona específica que actuará en la célula del sexo contrario (Fig. 1A). Cuando estas células se encuentran y se reconocen se da la conjugación, donde una célula a se aparea con una célula α . El apareamiento se inicia cuando una célula haploide detecta la feromona del sexo opuesto por medio de un receptor de 7 dominios transmembranales, localizado en la membrana de la célula del tipo celular contrario. Este reconocimiento de feromonas sexuales en cada célula, activa el sistema de transducción de señales en respuesta a feromonas. Esta cascada de señales produce un cambio morfológico, dando origen a un gameto que es una estructura piriforme conocida con el nombre de "shmoo", la cual le permitirá fusionarse a la célula del sexo opuesto y generar una célula diploide. En este estado las células pueden entrar en la etapa de esporulación en la que se dividen por meiosis, originando cuatro esporas haploides que están contenidas en un asca, de donde son liberadas para llevar a cabo el proceso de germinación. La germinación de estas esporas genera cuatro células haploides: dos del

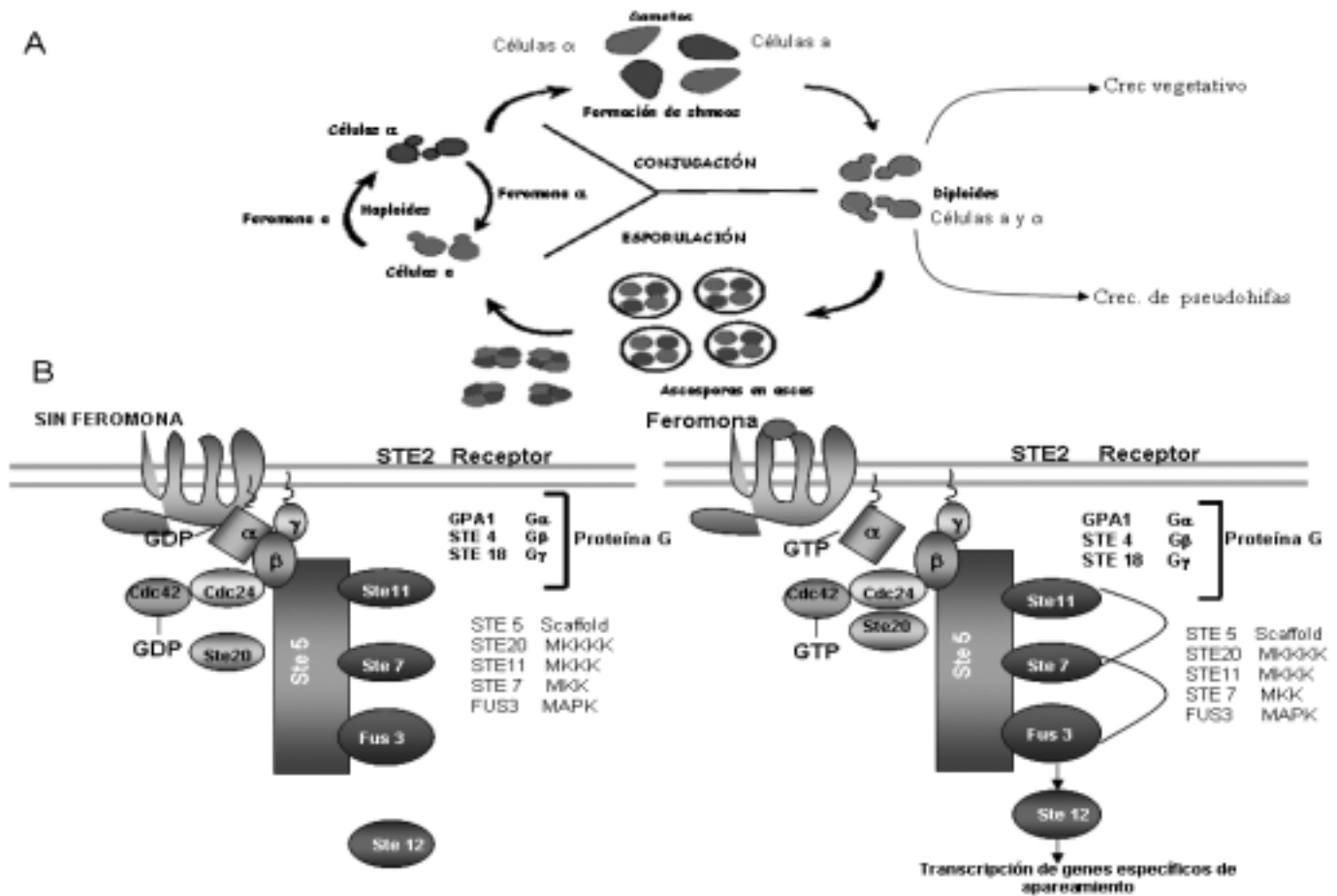


Figura 1. *Saccharomyces cerevisiae*. (A) Ciclo de vida y (B) Vías modelo de señalización.

tipo sexual α y dos del tipo sexual β (3, 5, 6). En este sistema de apareamiento la subunidad $G\alpha$, que corresponde al gen *GPA1* (*SCG1*) (5), juega un papel inhibitorio de la respuesta a feromonas. De manera que la interrupción del gen *GPA1* lleva a la activación constitutiva de la ruta (3, 5). La unión de la feromona al receptor provoca que éste sea activado y a su vez permite la activación de la proteína G, lo que induce la liberación del dímero $G\beta\gamma$ de la *GPA1* (Fig. 1B). Una vez libres $G\beta\gamma$, son capaces de interactuar con *ste5p* (proteína adaptadora o de andamiaje) y *ste11p* (MAPKKK), la interacción con ésta última induce la cascada de activación de las proteínas activadas por mitógenos o MAPK. *Ste11p* fosforila a *Ste7p* (MAPKK) y ésta a su vez fosforila a *Fus3p* o *Kss1p* (MAPK), como cualquier otra cascada de MAPK. Una de las vías activa-

das por esta cascada, será la de los factores de activación *Ste12p* la que lleva a la transcripción de genes específicos de apareamiento (Fig. 1B). El complejo formado por $G\beta\gamma$ con *Ste5p* también induce el reclutamiento y/o activación de la proteína G monomérica *Cdc24p* que es concomitantemente activada por el *Cdc42p* (factor intercambiador de nucleótidos-GEF). Una vez activada, *Cdc24p* podrá interactuar y fosforilar a la cinasa *Ste20p* que participa en la activación de la cascada de MAPK que en este caso incidirá en la morfología característica del apareamiento (3).

En respuesta a la limitación de nitrógeno, se estimula el receptor de 7 dominios transmembranales *Gpr1p*, que activa otra proteína G y cuya subunidad $G\alpha$ es denominada *Gpa2*. Esta proteína estimulará a la AC, como se ha corroborado con las mutantes

de *GPA2* donde su sobre-expresión lleva a un considerable incremento de AMPc intracelular. La respuesta final a esta carencia de nitrógeno es la formación de pseudohifas en células diploides. *Gpa2p* no participa en el apareamiento ya que mutantes de *GPA2* son viables y sin defecto en el proceso de apareamiento (7).

Estas cascadas de transducción de señales las utilizaremos como base para la descripción de las vías que operan en los hongos patógenos de humanos: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*; así como en los fitopatógenos *Ustilago maydis* y *Magnophorthe grisea*.

PAPEL DE LAS PROTEÍNAS G EN OTROS SISTEMAS FÚNGICOS

Los hongos patógenos dependen de señales ambientales que les permitan reconocer a su hospedero vegetal o

animal. En general el curso de las enfermedades micóticas está determinado principalmente por la interacción del agente patógeno con su hospedero y es importante destacar que los factores que predisponen a una enfermedad micótica son aportados tanto por los hongos como por el hospedero. Los hongos han desarrollado mecanismos para producir daño a los tejidos del hospedero o componentes que inhiben las funciones de la fagocitosis entre otros procesos fisiológicos, estos mecanismos son conocidos como factores de virulencia. Entre los factores de virulencia mejor caracterizados se encuentran: la producción de toxinas, proteasas, elastasas, fosfolipasas, adhesinas, melanina y cambios morfológicos (2, 8). La inducción de algunos de estos factores de virulencia es a través de rutas de señalización en las que intervienen las proteínas G. Mutantes de algunas de las subunidades de estas proteínas identificadas en algunos hongos patógenos, muestran disminución en la activación de genes involucrados en la patogenicidad, por lo que su virulencia se ve afectada (2). Algunas de las evidencias de la participación de las proteínas G en la patogénesis de los sistemas fúngicos más estudiados se enlistan en la Tabla 1.

Candida albicans es el principal agente etiológico de la candidiasis, este

patógeno es capaz de provocar tanto infecciones superficiales como sistémicas. Esta levadura se encuentra como comensal del hombre y se puede localizar en la piel, las mucosas del tracto respiratorio alto, tracto genitourinario y el tracto digestivo, su cambio a patógeno está determinado por diversos factores ambientales pero implica un cambio morfológico de levadura a hifa. Este hongo es dimórfico y puede crecer como levadura (blastoconidios) o adoptar la forma filamentosa (tanto hifas como pseudohifas) bajo una variedad de condiciones ambientales (Fig. 2A). La capacidad dimórfica reversible que tiene esta levadura es esencial para su virulencia, ya que las estructuras filamentosas que desarrolla le permitirán adherirse de forma eficiente al tejido del hospedero y posteriormente invadir los tejidos (8). La transición levadura-hifa de *C. albicans* puede ser disparada *in vitro* por una variedad de factores, incluyendo carbohidratos, aminoácidos, sales, cambios de pH, temperatura, suero, etc. Estos inductores hifales disparan una amplia variedad de rutas de transducción de señales involucradas en la morfogénesis (Fig. 2A). Las dos rutas mejor estudiadas son la ruta de las MAPK y la vía AMPc-proteína cinasa A (PKA) (Fig. 2B). La GPA2 que codifica para una G α participa en el crecimiento

invasivo haploide, su función se ha propuesto cascada arriba en dos sistemas diferentes: la vía AMPc-PKA (7) o la vía de MAPK (9), en cualquier caso su delección afecta el crecimiento invasivo. La cascada que lleva a la estimulación de MAPK en *C. albicans* consiste en la estimulación de Ras1p, quien estimula a la cinasa Cst20p, que disparará la cascada de MAPK. En *C. albicans* ésta consiste de las cinasas Hst11p (MAPKKK), Hst7p (MAPKK) y Cek1p (MAPK) y dará como evento final la activación del factor de transcripción Cph1 que contribuye a la filamentación y virulencia; se tiene como evidencia de la participación de éstas proteínas, que sus mutantes nulas generan organismos con hifas defectuosas y por ende un grado menor de virulencia. Por otro lado, la activación de Ras1p estimula a la AC que producirá el AMPc, con la subsecuente estimulación de la CaTpk2 (PKA). Esta cascada conlleva a la activación del factor de transcripción Efg1, estimulador también de genes de filamentación y virulencia (7, 10).

Cryptococcus neoformans es un hongo basidiomiceto con una amplia distribución mundial, su importancia como patógeno oportunista ha tomado relevancia con la aparición del SIDA, la quimioterapia y tratamientos inmunosupresores en pacientes

TABLA 1

Las subunidades G α y su función en diferentes organismos fúngicos

Organismo	Nombre del Gen	Función Biológica
<i>Candida albicans</i>	GPA2	Participa en la inducción de la morfogénesis filamentosa, mediada por Ras1 (7).
<i>Cryptococcus neoformans</i>	GPA1	Participa en el apareamiento y virulencia (12). Participa en la producción de AMPc (13).
<i>Ustilago maydis</i>	GPA3	Ruta de respuesta a feromona. Morfogénesis y patogenicidad (14).
<i>Magnaporthe grisea</i>	MAG A	Participa en la virulencia (15).

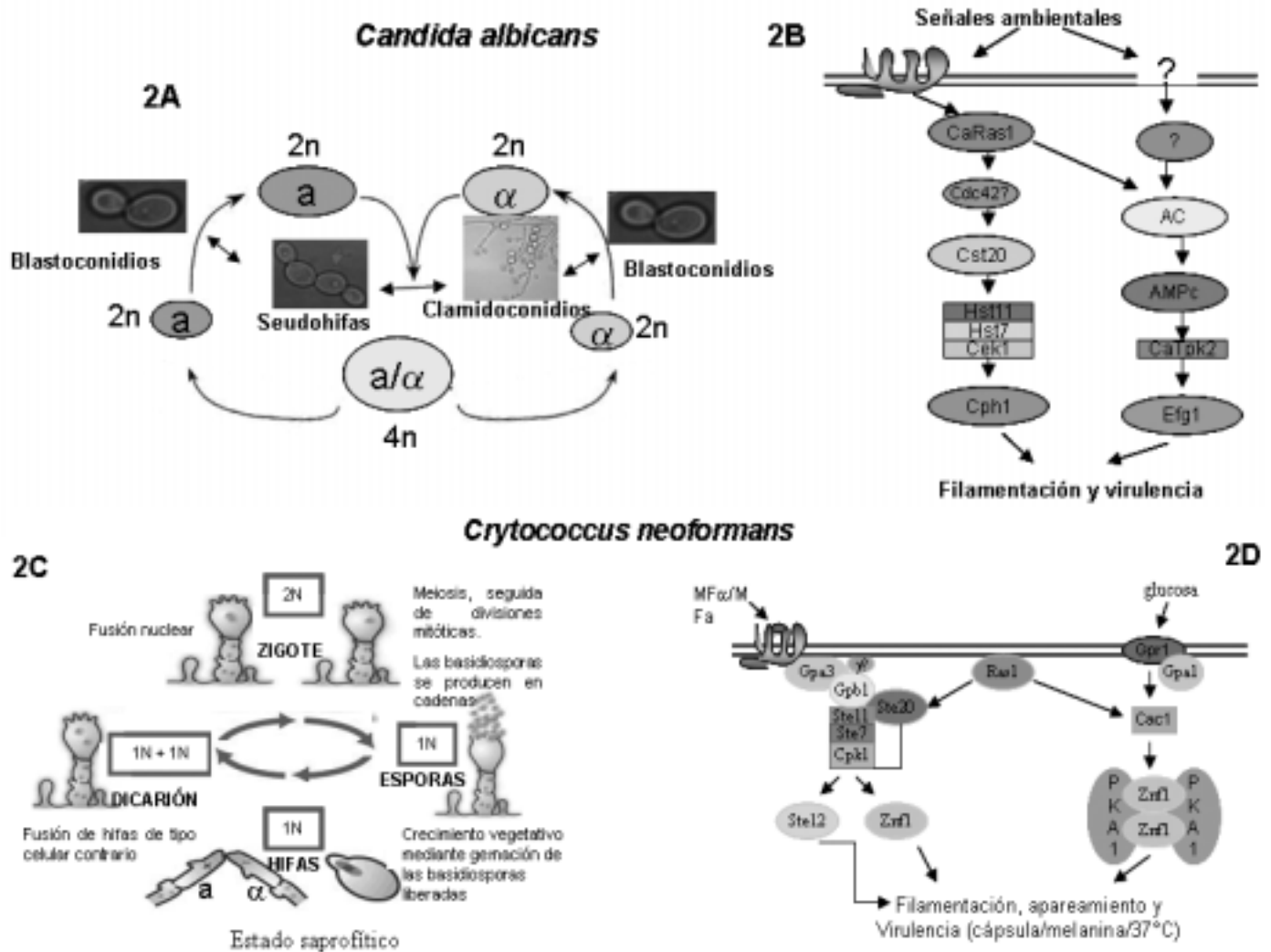


Figura 2. *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*. Ciclos de vida ((A y C, respectivamente) y Vías de señalización participantes en las patologías (B y D respectivamente).

transplantados (8). *C. neoformans* es una levadura encapsulada con una predilección por el sistema respiratorio y nervioso. La infección es adquirida por la inhalación de los propagulos infectantes (basidiosporas o levaduras) presentes en el ambiente, para posteriormente albergarse en los espacios alveolares y establecer una infección pulmonar primaria y posteriormente diseminarse al sistema nervioso central (SNC) para producir meningoencefalitis, la forma clínica más frecuente. En la naturaleza se encuentra en su forma vegetativa (Fig. 2C), que es una levadura con un diámetro aproximado de 2.5 μm a 10 μm . En esta levadura se ha descrito un ciclo de re-

producción sexual, el cual lo ubica en el grupo de los basidiomicetos, produciendo como partículas de reproducción las basidiosporas. La reproducción sexual ocurre de forma muy poco frecuente en la naturaleza a comparación de la reproducción asexual o vegetativa, cuyas partículas de reproducción son las levaduras. Las esporas sexuales (basidiosporas) miden aproximadamente entre 1.8 y 3 μm de diámetro y resultan del apareamiento de los tipos celulares α y a . Aunque la naturaleza exacta de las partículas infecciosas de *C. neoformans* no está determinada, todo indica que pueden ser las células levaduriformes deshidratadas o basidiosporas las que

entran a los pulmones. Una vez en el sistema respiratorio, las levaduras podrían rehidratarse y desarrollar la cápsula polisacárida que la caracteriza. En el caso de las basidiosporas, estas podrían convertirse en blastocnidios capsulados en el pulmón (Fig. 2C). La criptocosis es el nombre que recibe la infección por *C. neoformans* que inicia en los pulmones y posteriormente llega a otros órganos mediante el sistema circulatorio, con predilección por el SNC. Es posible que permanezca en el SNC por la presencia de abundantes neurotransmisores que pueden servirle como precursores bifenólicos para sintetizar melanina, la cual es considerada como uno de los factores

de virulencia (8). La virulencia de *C. neoformans* depende de varios factores, incluyendo la producción de una cápsula de polisacáridos, el uso de la melanina como un antioxidante y el crecimiento a temperaturas fisiológicas (37 a 39 °C). El apareamiento y el crecimiento filamentoso, aunque no están de manera directa involucrados en la virulencia, pueden jugar un papel importante en la sobrevivencia y promover la diseminación del patógeno en el hospedero. Los sistemas de transducción de señales (Fig. 2D) que regulan la virulencia y la diferenciación de *C. neoformans* se han estudiado ampliamente e incluyen la vía de las MAPK, la vía de proteínas G que estimulan la producción de AMPc y la ruta específica de Ras. La cascada de MAPK regula el apareamiento, que involucra diferenciación morfológica, tal como la producción del micelio dicariótico, basidios y basidiosporas, producidas en respuesta a feromonas secretadas por células del sexo opuesto. Se han descrito varios elementos de la ruta cAMP-PKA, incluyendo la proteína G α (GPA1) y se ha observado que esta ruta es importante para la morfogénesis y la virulencia, además, se ha identificado un miembro de la familia RAS (proteínas G monoméricas) RAS1 (11, 12, 13). La ruta MAPK está compuesta de Ste3p (receptor de siete dominios transmembranales), Ste20p (PAK) y Ste12p (factor transcripcional), Gpb1 (G), Ste7 (MAPKK), Cpk1 (MAPK) y Gpa3 (G α). Aunque básicamente sigue el esquema de las vías descritas para *S. cerevisiae* y *C. albicans*, la interrupción de cualquiera de estos genes muestra que la ruta MAPK es requerida para el apareamiento y la diferenciación celular, pero no para la virulencia. La ruta de señalización dependiente de PKA, controla tanto los factores de virulencia (melanina y producción de cápsula) como los de diferenciación morfológica (apareamiento y

crecimiento filamentoso). De manera semejante a *S. cerevisiae*, la estimulación por nutrientes, en este caso glucosa, provoca la estimulación de Gpr1p (receptor), lo que activa a Gpa1p con la subsecuente estimulación de Cac1p (AC) para producir AMPc, el cual activa a la PKA1 y eventualmente la transcripción de genes como Ste12 y Znf1, involucrados en la filamentación, producción de cápsula y síntesis de melanina, todos ellos factores de virulencia (13). La interrupción de los genes GPA1 o CAC confieren defectos en la producción de melanina y cápsula, ya que las cepas Δ gpa1 y Δ cac1 muestran un fenotipo de atenuación en la virulencia o son avirulentas en conejo y en modelos murinos de meningitis criptococal (11).

Ustilago maydis, hemibasidio-miceto fitopatógeno, es el agente causal de la enfermedad del maíz, popularmente denominado Huitlacoche; su ciclo de vida (Fig. 3A) está caracterizado por un cambio dimórfico entre un estado similar al levaduriforme haploide y un dicarion filamentoso. Las basidiosporas son resultado de la reproducción asexual de *U. maydis*, estas estructuras son ligeramente alargadas y se dividen por gemación, creciendo como saprófitos en detritus vegetales y estiércol. Las hifas dicarióticas se forman por la fusión de dos basidiosporas de diferente tipo celular (sexual) a y b. En respuesta a los factores de apareamiento las células forman unas estructuras filamentosas denominadas tubos de conjugación. La fusión de las células ocurre en el ápice de los tubos de conjugación y finalmente se desarrollan los filamentos dicarióticos. Las hifas resultantes son patógenas en maíz, ya que infectan el tejido meristemático de estas plantas; la proliferación de hifas en los tejidos vegetales induce crecimiento neoplásico y formación de agallas. Dentro de estas estructuras similares a tumores ocurre la cariogamia, dando lugar a las

teliosporas diploides uninucleadas; cuando estos tumores se rompen, millones de esporas negras son liberadas y pueden ser dispersadas por el viento y la lluvia. Si se encuentran en condiciones ambientales adecuadas, ocurre la meiosis y las teliosporas germinan para formar el promicelio que consiste de cuatro células haploides, incluyendo la teliospora original. Finalmente las basidiosporas germinan para reiniciar el ciclo de vida (10). *U. maydis* codifica para dos tipos de feromonas, la unión de la feromona a su receptor induce una ruta de transducción de señales similar a la ruta de respuesta a feromonas muy bien caracterizada en *S. cerevisiae* y previamente detallada. Aunque la vía de MAPK estimulada por feromonas no parece influir directamente en la virulencia, el lenguaje cruzado de ésta vía con la de AMPc sugiere que algunos de sus componentes sí podrían participar (Fig. 3B). La reproducción sexual de *U. maydis* es regulada por los tipos celulares a y b, ambos tipos celulares contienen dos genes estrechamente relacionados (MFA y PRA) que codifican para la feromona y para el receptor acoplado a proteínas G respectivamente (14). En *U. maydis*, se han identificado cuatro subunidades G α de la proteína G heterotrimérica (Gpa1p a Gpa4p). Cada uno de estos genes fue interrumpido y solo la mutante Δ gpa3 muestra defectos en el apareamiento. También se observó que gpa3p tiene un papel importante en la formación de filamentos y por lo tanto en la patogenicidad. La interrupción del gen *gpa3* produjo deficiencia en la inducción de genes específicos en respuesta a feromonas como es el caso de MFA, mientras que una mutante constitutivamente activa de *gpa3* induce la expresión de MFA 50 veces más. Estos experimentos indicaban que GPA3 juega un importante papel en la respuesta a feromonas y en el desarrollo sexual de *U. maydis*

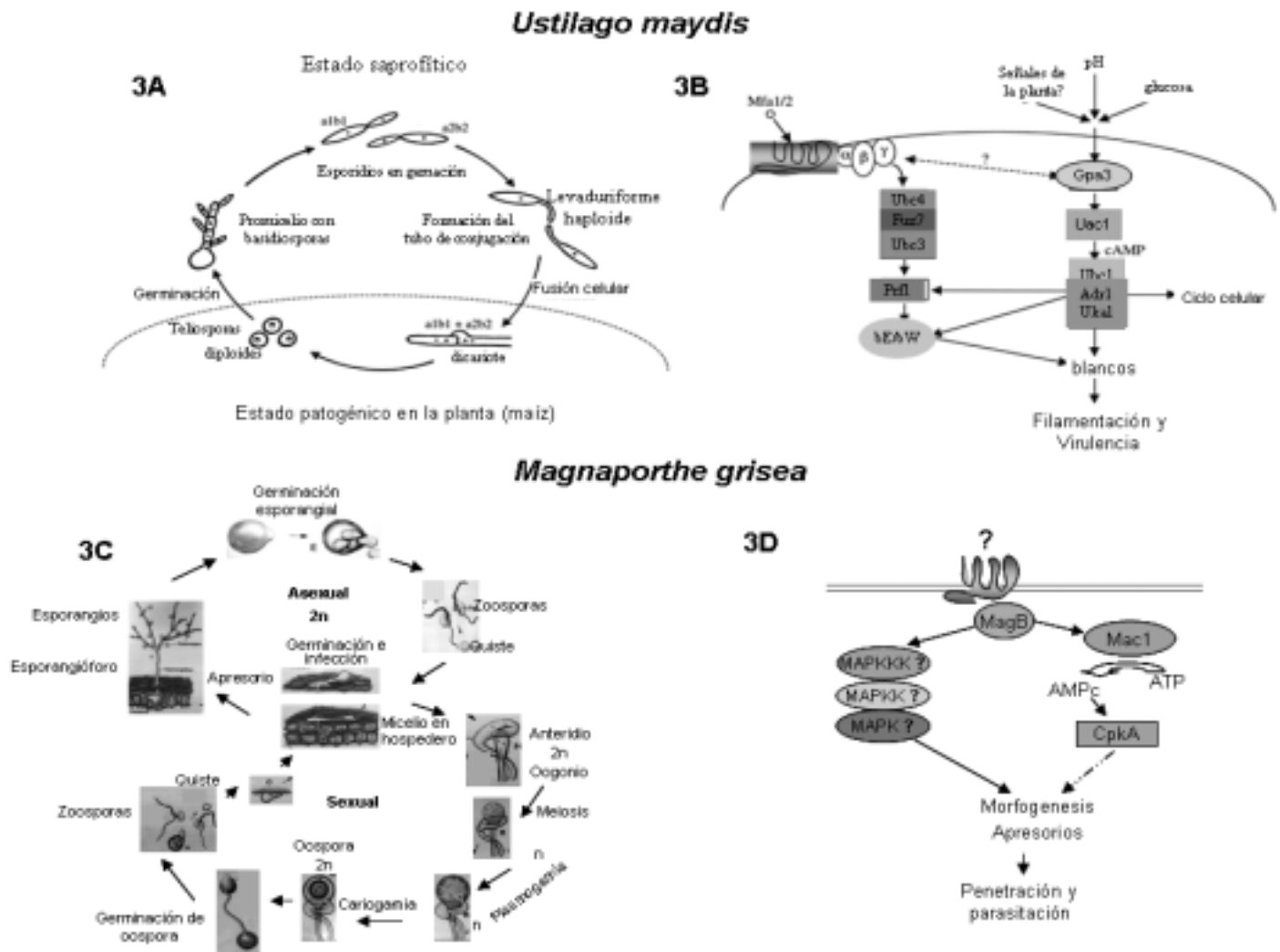


Figura 3. *Ustilago maydis* y *Magnaporthe grisea*. Ciclos de vida (A y C, respectivamente) y Vías de señalización participantes en las patologías (B y D respectivamente).

y se proponía que este gen podría estar codificando para la subunidad $G\alpha$ de la proteína G heterotrimérica. Sin embargo la forma constitutivamente activa de Gpa3 no produjo el apareamiento del hongo en ausencia de feromona y las mutantes de *gpa3* produjeron células elongadas, similares a las mutantes del gen *uac1* que codifica para la AC. El crecimiento de las basidiosporas se restaura en mutantes *gpa3* por AMPc, lo que sugiere que *gpa3p* funciona río arriba de la AC. Varios componentes del módulo de las MAPK se han identificado en *U. maydis*. Ubc4p (MAPKKK), Fuz7p (MAPKK), Ubc3 (MAPK) y de sus

blancos como, Prf1 bE/bW (factores de transcripción). Por otro lado se ha observado que la estimulación de Gpa3p activa a la Uac1p (AC), cuyo producto induce la activación de Adr1p/Uka1p (PKA) que eventualmente llevan a la transcripción de genes que participan en la reproducción, filamentación y virulencia de *U. maydis* (10, 14).

Magnaporthe grisea causa la roya del arroz, es un ascomiceto heterotálico y tiene dos tipos celulares *MATI-1* y *MATI-2* y produce núcleos que funcionan como gametos masculino o femenino (Fig. 3C). El ciclo sexual involucra la fusión de un gameto mas-

culino y un gameto femenino. En condiciones ambientales favorables se inicia la reproducción sexual con la fusión de cepas de tipo celular opuesto y concluye con la producción de peritecios maduros y la producción de ascas conteniendo 8 ascosporas. La infección se inicia con la germinación de esporas asexuales en la superficie de las hojas y la formación de apresorios, estructuras que generan una enorme presión turgente lo que le permite al hongo penetrar la cutícula vegetal (2, 10).

Los apresorios son estructuras fúngicas que son utilizadas por varios miembros de este reino para penetrar

la superficie de su hospedero. El desarrollo de esta estructura involucra un proceso morfogénico muy complejo y parecen estar participando múltiples señales externas, tanto físicas como químicas. Se ha demostrado que la ruta de transducción dependiente de AMPc está involucrada en la formación de apresorios; el AMPc exógeno induce la germinación de los blastoconidios y del micelio vegetativo para producir apresorios en *M. grisea* (Fig. 3D). Con este hallazgo se realizaron más estudios y se logró identificar y caracterizar los componentes de la vía de señalización. Se identificó el gen que codifica para la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de AMPc (CPKA), las mutantes de este gen generan apresorios defectuosos sobre tejido epidérmico de cebolla y no causan lesiones en cultivos de arroz susceptibles de infección, además el defecto en la formación de apresorios no fue rescatado por la adición de AMPc exógeno. En ensayos de patogenicidad, todas las mutantes *cpkA* produjeron síntomas de la enfermedad en plantas con laceraciones, sin embargo en plantas sanas no lo hicieron, lo que confirma que el AMPc tiene un papel importante en la formación de apresorios, pero su participación es indispensable para la penetración (2, 10). Otra de las proteínas identificadas es *mac1* (AC), mutantes *mac1* muestran fenotipos pleiotrópicos y son avirulentas en plantas susceptibles. Mutantes *mac1* muestran una disminución significativa en el crecimiento

vegetativo y en la conidiación, también mostraron un fenotipo de esterilidad ya que son incapaces de producir peritecios. Por otro lado en *M. grisea* se han descrito tres genes que codifican para la subunidad G α de la proteína G heterotrimérica *MAGA*, *MAGB* y *MAGC*. La caracterización de las mutantes revelaron que *MAGA* interviene en la producción de las ascas maduras, de hecho, *MAGA* tiene poca similitud con *GPA1* y *GPA2* de *S. cerevisiae* y *C. neoformans*. *MAGC* parece estar involucrada en la formación de propágulos sexuales y asexuales. Mutantes de *MAGB* presentaron reducción significativa del crecimiento vegetativo, conidiación y formación de apresorios. No obstante, la formación de apresorios se induce en mutantes $\Delta magB$ por la adición de AMPc, lo que indica que diferentes rutas de señalización, algunas independientes de proteínas G, regulan la formación de apresorios. En vista de estos hallazgos es necesario realizar más estudios sobre los componentes de la vía de respuesta a feromonas en este organismo (15).

CONCLUSIONES

A la fecha se ha logrado un avance significativo en el estudio de las proteínas G heterotriméricas fúngicas, sin embargo aún se desconocen muchos de los elementos que participan en su regulación; los diversos estudios en diferentes hongos, incluyendo ascomicetos y basidiomicetos, han mostrado que estos organismos tienen rutas de

transducción de señales muy conservadas y que participan en la regulación del desarrollo y virulencia fúngica. Una es la cascada de las MAPK que es activada en respuesta a feromonas y la segunda es la vía que censa nutrientes AMPc-PKA. Se ha demostrado, además, que ambas vías funcionan de manera coordinada para regular procesos de apareamiento, filamentación y virulencia.

Aun resta identificar el papel que tienen algunas de las proteínas que participan en estas cascadas de transducción de señales, así como la función específica de cada subunidad G α de la proteína G heterotrimérica, ya que parecen estar involucradas en diferentes sistemas de transducción de señales.

El avance en el estudio de los sistemas de transducción de señales que conducen a la transcripción de genes involucrados en la patogénesis de algunos hongos de importancia médica o comercial ha contribuido a la comprensión de los factores de virulencia de dichos organismos y a la búsqueda de nuevas alternativas en el uso de fármacos que sean capaces de inhibir el crecimiento de los patógenos sin causar daños en los hospederos.

Nota. Este trabajo se realizó de manera parcial durante el curso de transducción de señales, que coordina la Dra. Ma. Eugenia Torres Márquez en el posgrado en Ciencias Biomédicas, UNAM.

REFERENCIAS

1. Wettschureck N, Offermanns S (2005) Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiol Rev* 85:1159-1204.
2. Madhani HD, Fink GR (1998) The control of filamentous differentiation and virulence in fungi. *Trends Cell Biol* 8:348-353.
3. Dohlman HG (2002) G proteins and pheromone signalling. *Annu Rev Physiol* 64:129-152.
4. Rangel Serrano A (1998) Función y propiedades bioquímicas de las proteínas G. *BEB* 18: 53-59.

5. Dietzel C, Kurjan J (1987) The yeast SCG1 gene: a G alpha-like protein implicated in the a- and alpha-factor response pathway. *Cell* 50:1001-1010.
6. Kübler E, Mosch HU, Rupp S, Lisanti MP (1997) Gpa2p a G-protein alpha-subunit, regulates growth and pseudohyphal development in *Saccharomyces cerevisiae* via a cAMP-dependent mechanism. *J Biol Chem* 272: 20321-20323.
7. Maidan MM, De Rop L, Serneels J, Exler S, Rupp S, Tourna H, Thevelein JM, Van Dijck P (2005) The G protein-coupled receptor Gpr1 and the G α protein Gpa2 act through the cAMP-Protein Kinase A pathway to induce morphogenesis in *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 16: 1971-1986.
8. López-Martínez R, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, Castañón-Olivares R (2004) *Micología Médica. Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*. Editorial Trillas, Mexico, D.F. pp.192.
9. Sánchez-Martínez C, Pérez-Martin J (2002) Gpa2, a G-protein a subunit required for hyphal development in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell* 1, 865-874.
10. Lengeler KB, Davidson RC, D'Souza C, Harashima T, Shen WC, Wang P, Pan X, Waugh M, Heitman J (2000) Signal Transduction Cascades Regulating Fungal Development and Virulence. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64:746-785.
11. Noverr MC, Williamson PR, Fajardo RS, Huffnagle GB (2004) CNLAC1 is required for extrapulmonary dissemination of *Cryptococcus neoformans* but not pulmonary persistence. *Infect Immun* 72:1693-1699.
12. Alspaugh JA, Perfect JR, Heitman J (1997) *Cryptococcus neoformans* mating and virulence are regulated by the G-protein alpha subunit GPA1 and cAMP. *Genes Dev.* 1:3206-3217.
13. Bahn YS, Hicks JK, Giles SS, Cox GM, Heitman J (2004) Adenylyl cyclase-associated protein Aca1 regulates virulence and differentiation of *Cryptococcus neoformans* via the cyclic AMP-protein kinase A cascade. *Eucaryot Cell* 3:1476-1491.
14. Regenfelder E, Spelling T, Hartmann A, Lauenstein S, Bölker M, Kahmann R (1997) G proteins in *Ustilago maydis*: transmission of multiple signals? *EMBO J* 16:1934-1942.
15. Liu S, Dean RA (1997) G protein alpha subunit genes control growth, development and pathogenicity of *Magnaporthe grisea*. *Mol Plant Microbe Interact* 10:1075-1086.