



FACULTAD DE
CIENCIAS

Microbiología clínica

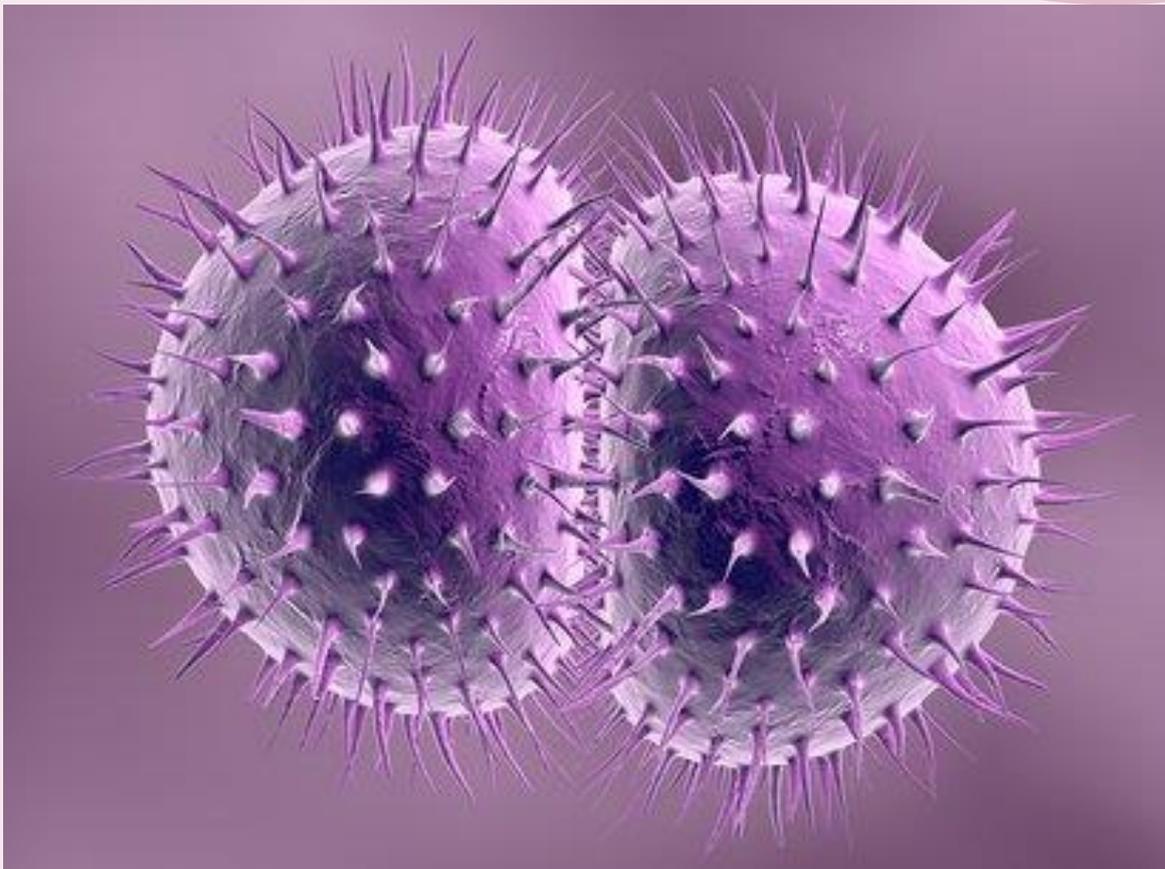
Grado en Bioquímica
Departamento de Biología Molecular
JMRR-UAM © 2023

UAM

Universidad Autónoma
de Madrid

TEMA 12.

NEISSERIA



Trabajo realizado por:

- Javier Ramos Gómez
- Clara Rodríguez Blanco
- Alba Rojo García
- Sergio de la Torre Rodríguez

Índice

1.	Introducción	3
1.1.	Especies de <i>Neisseria</i>	3
1.1.1.	<i>Neisseria meningitidis</i>	5
1.1.2.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	8
2.	Factores de colonización y virulencia	10
3.	Transferencia horizontal de genes	12
4.	Mecanismos de variabilidad genética en <i>Neisseria</i>	18
5.	Relevancia funcional de la variación genética	24
5.1.	Los pili	24
5.2.	Evasión de la respuesta inmunitaria y variación adaptativa	25
5.3.	Tropismos celulares de las proteínas opaque (Opa)	26
6.	Papel de los neutrófilos en la patogénesis de <i>Neisseria</i>	29
7.	Evasión del sistema del complemento y susceptibilidad a la enfermedad	34

1. Introducción

Existen referencias en la Biblia y otros escritos antiguos a las infecciones causadas por *N. gonorrhoeae*. El agente causante de la gonorrea fue descrito en 1879 por **Albert Neisser**. Con la introducción de la **sulfonamida** (1936) y la **penicilina** (1943) en el tratamiento de esta infección se produjo una gran disminución de la incidencia. Sin embargo, en los últimos años se está observando un incremento en la incidencia debido a la emergencia de bacterias resistentes a la práctica totalidad de antibióticos (**Fig. 1**). Esto ha llevado al CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) de EEUU a designar a los gonococos como amenaza urgente entre los patógenos resistentes a antibióticos.

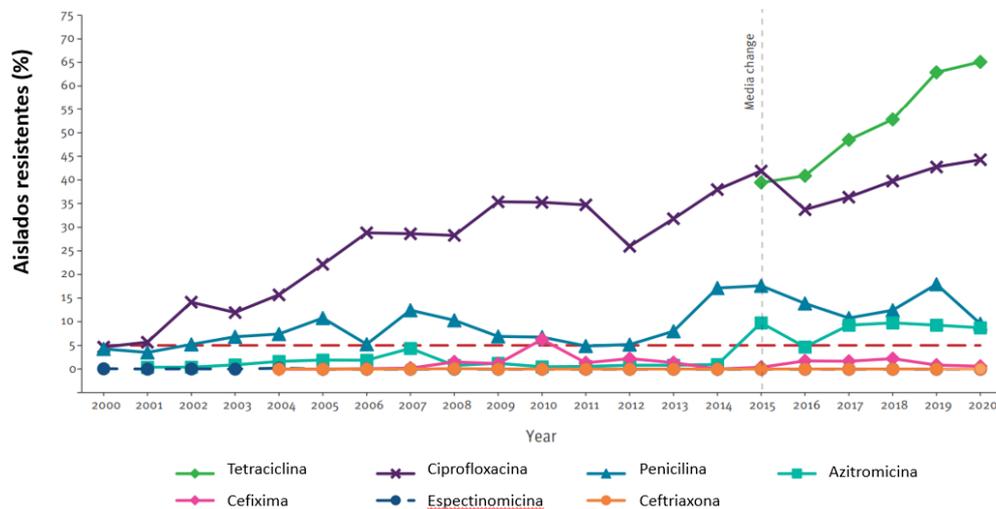


Figura 1. Porcentaje de aislados de *N. gonorrhoeae* resistentes a diferentes antimicrobianos durante los últimos 20 años (Modificada de Omeershfudin & Kumar, 2023)

1.1. Especies de *Neisseria*

El género *Neisseria* está constituido por **cocos gramnegativos aerobios** con tendencia a agruparse por parejas en forma de grano de café (**Fig. 2, Fig. 3**). Este género contiene muchas especies (**Tabla 1**), la mayoría son organismos comensales en humanos, incapaces de causar infección. Entre éstas, las más conocidas son *N. lactamica* y *N. mucosa*, que comparten el tracto nasofaríngeo como nicho y estructuras antigénicas con *N. meningitidis*. De hecho, la presencia de *N. lactamica* se ha relacionado con el desarrollo de inmunidad protectora frente a *N. meningitidis*, lo que explicaría el gran número de portadores asintomáticos del meningococo.

Species	Morphology	Reference
<i>N. weaveri</i>	Bacillus	Andersen <i>et al.</i> (1993)
<i>N. elongata</i>	Bacillus	Bovre & Holten (1970)
<i>N. bacilliformis</i>	Bacillus	Han <i>et al.</i> (2006)
<i>N. shayeganii</i>	Bacillus	Wolfgang <i>et al.</i> (2011)
<i>N. animaloris</i>	Coccobacillus	Ganière <i>et al.</i> (1995)
<i>N. zoodegmatidis</i>	Coccobacillus	Ganière <i>et al.</i> (1995)
<i>N. tadorna</i>	Diplococcus	Wang (2011)
<i>N. canis</i>	Diplococcus	Berger (1962)
<i>N. denitrificans</i>	Diplococcus	Berger (1962)
<i>N. animalis</i>	Diplococcus	Berger (1960)
<i>N. dentiae</i>	Diplococcus	Sneath & Barrett (1996)
<i>N. iguanae</i>	Diplococcus	Plowman <i>et al.</i> (1987)
<i>N. wadsworthii</i>	Diplococcus	Wolfgang <i>et al.</i> (2011)
<i>N. macacae</i>	Diplococcus	Vedros <i>et al.</i> (1983)
<i>N. oralis</i>	Diplococcus	Wolfgang <i>et al.</i> (2013)
<i>N. mucosa</i>	Diplococcus	Veron <i>et al.</i> (1959)
<i>N. sicca</i>	Diplococcus	Shaw (1932)
<i>N. flavescens</i>	Diplococcus	Branham (1930)
<i>N. subflava</i>	Diplococcus	Benson <i>et al.</i> (1928)
<i>N. lactamica</i>	Diplococcus	Hollis <i>et al.</i> (1969)
<i>N. polysaccharea</i>	Diplococcus	Riou & Guibourdenche (1987)
<i>N. cinerea</i>	Diplococcus	Knapp <i>et al.</i> (1984)
<i>N. skkuensis</i>	Coccus	Park <i>et al.</i> (2012)

Tabla 1. Especies del género *Neisseria* (Liu et al, 2015).

Dos especies de este género, *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*, han evolucionado hasta convertirse en dos patógenos muy exitosos. Estos patógenos, específicos de humanos, están especializados en multiplicarse en las mucosas, pero en distintas localizaciones, y, además, producen enfermedades muy diferentes.

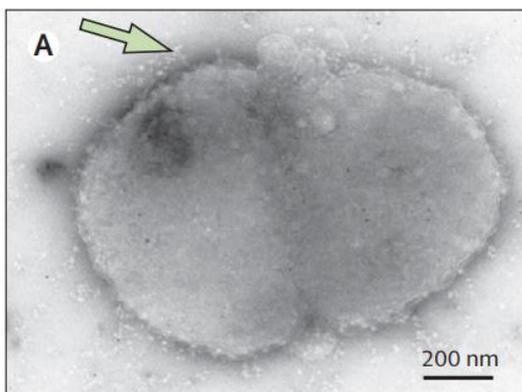


Figura 2. Microscopía electrónica de *Neisseria meningitidis* (diplococcus). La flecha indica la presencia natural de manchas en la membrana externa (Sadarangani, & Pollard, 2010)

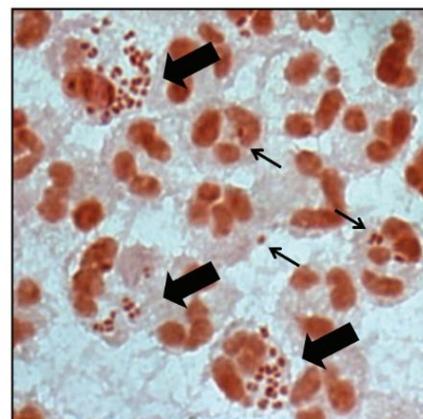


Figura 3. Tinción de Gram del exudado uretral de un paciente con gonorrea. Las flechas finas indican los neutrófilos asociados a diplococos individuales, mientras que las flechas grandes indican los neutrófilos adheridos a múltiples gonococcus (Criss, 2011).

1.1.1. *Neisseria meningitidis*

N. meningitidis es adquirido por la inhalación de gotas respiratorias que lo contienen. En el tracto nasofaríngeo, la bacteria establece un contacto íntimo con las células epidérmicas no ciliadas de las mucosas, donde puede entrar durante un corto espacio de tiempo, volviendo posteriormente a la superficie apical de las células para la transmisión a un nuevo hospedador.

Especie	Localización en el tracto respiratorio superior	Infecciones	Referencia
<i>N. gonorrhoeae</i>	Orofaringe	Faringitis, amigdalitis	Wiesner et al. (1973)
<i>N. gonorrhoeae</i>	Arcos palatinos, amígdalas, faringe posterior	Faringitis, amigdalitis	Bro-Jorgensen and Jensen (1973)
<i>N. gonorrhoeae</i>	Faringe	Asintomático	Dilley et al. (2003)
<i>N. lactamica</i>	Cavidad nasal	Meningitis, rinorrea cerebrovascular	Denning and Gill (1991)
<i>N. meningitidis</i>	Laringe	Epiglotitis	Nelson, Watanakunakorn and Watkins (1997)
<i>N. meningitidis</i>	Valléculas, fosas piriformes, fosas piriformes, aritenoides, epiglotis	Disfagia, supraepiglotitis	Sarwar et al. (2011)

Tabla 2. Algunos ejemplos de infecciones o condiciones en el tracto respiratorio superior causadas por la presencia de diferentes especies de *Neisseria*. (*elaboración propia* a partir de la tabla en Weyand, 2017)

El **estado portador asintomático** es común entre los adultos sanos, en los que las bacterias que cruzan la barrera epitelial van a ser destruidas. Alrededor del 10% de la población europea presenta meningococos como especies comensales. Además de la transcitosis, *N. meningitidis* puede atravesar el epitelio a través de células fagocíticas, utilizadas por la bacteria a modo de “caballo de Troya” (**Fig. 4**).

Las proteínas Opa pueden unirse a las CEACAM y a las HSPG, y las proteínas Opc pueden interactuar con las HSPG y, a través de la vitronectina y la fibronectina, con sus receptores de integrinas. En la **Figura 4** se muestra el esquema de las interacciones de *N. meningitidis* en la barrera epitelial y la penetración en la misma. Las CEACAM, las integrinas y las HSPG pueden provocar la internalización de los meningococos por las células epiteliales (1) al desencadenar diversos mecanismos de señalización de las células huésped. Los meningococos pueden encontrarse en el tejido subepitelial (2) en individuos sanos, por lo que la entrada celular o el paso a través del epitelio puede no ser un acontecimiento inusual.

Además, el hecho de que los meningococos puedan interactuar con proteínas subcelulares como la α -actinina también puede respaldar en cierta medida esta noción, aunque la función de esta α -actinina no es la misma que la de los meningococos. Aunque el papel de esta interacción in vivo sigue sin estar claro. Al atravesar la barrera epitelial, los meningococos son capaces de interactuar además con proteínas de la matriz extracelular, como la fibronectina (Fn) y la vitronectina (Vn). Las bacterias internalizadas también pueden migrar de vuelta a la superficie apical para transmitirse a un nuevo huésped (3).

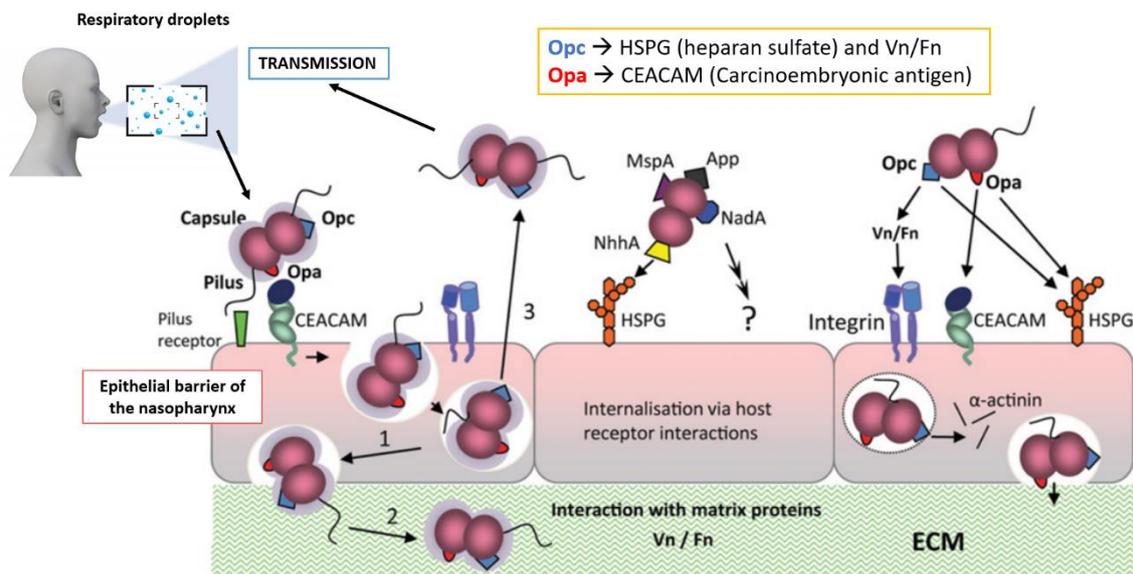


Figura 4. Interacciones de *N. meningitidis* en la barrera epitelial y su penetración en la misma (Modificada de Virji et al, 2010)

En individuos susceptibles, una vez atravesada la barrera epitelial, la bacteria sobrevive y alcanza la sangre donde se multiplica rápidamente, diseminándose a distintos sitios del cuerpo, entre ellos el cerebro (**Fig. 5**). En el torrente sanguíneo, la bacteria puede causar **meningococia** (una bacteriemia sistémica que puede ocasionar un “shock” séptico). Por otro lado, el meningococo tiene capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica e infectar las meninges y el fluido cerebroespinal. Si no se produce una intervención a tiempo, la infección puede conducir al desarrollo de desórdenes neurológicos y a la muerte.

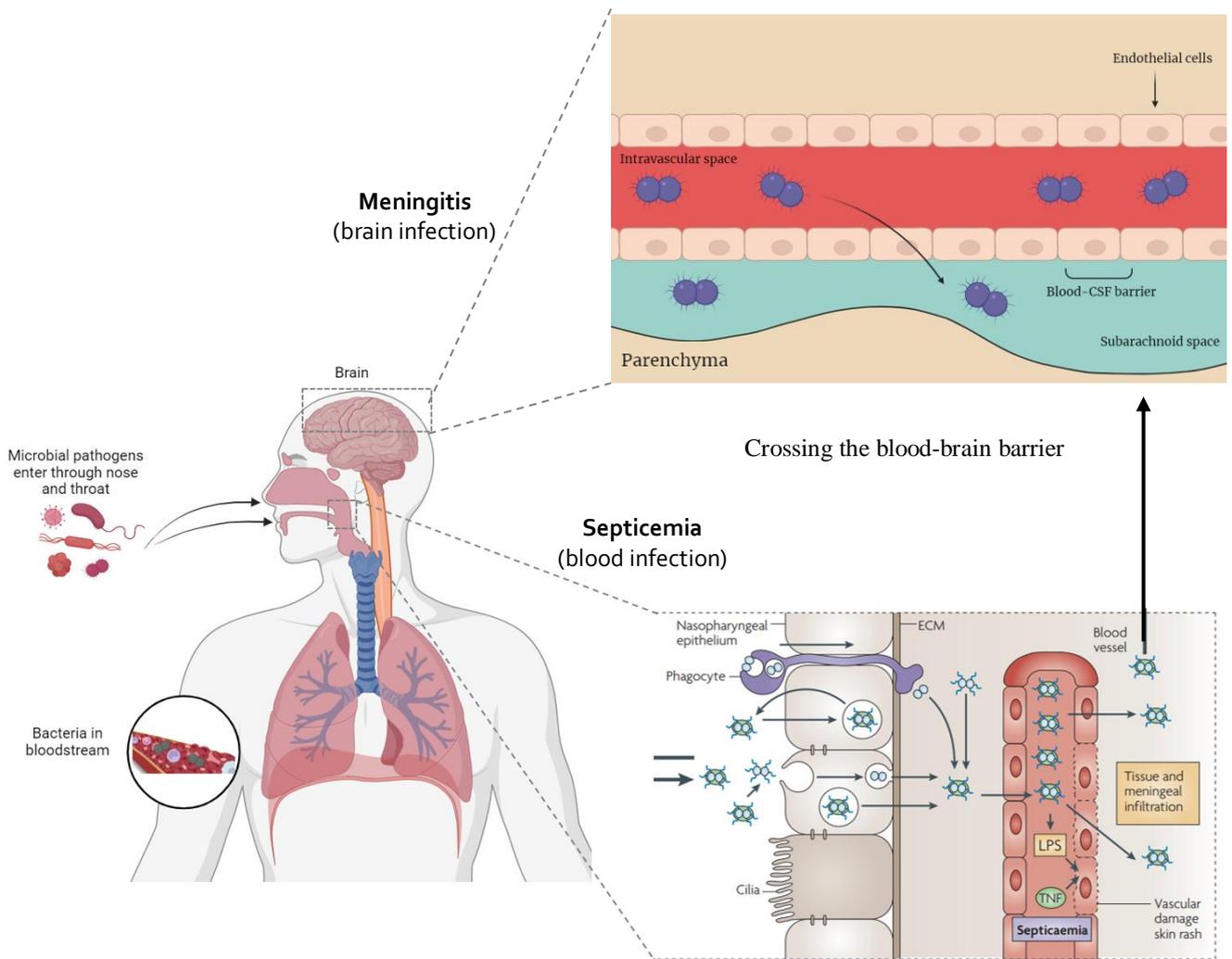


Figura 5. Transmisión e infección por *Neisseria meningitidis* (elaboración propia y modificado de Virji 2009)

Muy pocos patógenos son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica e invadir las meninges, ya que es una de las barreras más apretadas del cuerpo. *N. meningitidis* alcanza la meta de invadir las meninges utilizando la ruta transcelular, estimulando su endocitosis por las células que componen la barrera y su liberación subsiguiente en el fluido cerebroespinal del otro lado.

La tasa de enfermedad por infección de *N. meningitidis* es relativamente baja, si tenemos en cuenta el gran porcentaje de individuos que portan la bacteria. Así, en Europa se producen de 1-5 casos de enfermedad por cada 100.000 habitantes. Es prevalente en dos grupos de edad: los niños menores de 1 año y en jóvenes entre 15 y 19 años. Si bien tiene una baja incidencia, la mortalidad asociada a la enfermedad es muy alta, alrededor del 10% (y del 50% en ausencia de tratamiento); además, en un 20% de los supervivientes quedan algún tipo de secuela neurológica.

Dado que *N. meningitidis* se aísla sólo en humanos y no se encuentra en el ambiente, parece que su habilidad para causar enfermedad es un accidente en el ciclo vital, dado que la muerte rápida de su hospedador no es una ventaja para la bacteria. Como se mencionó antes, el 10% de la población europea presenta meningococos como especies comensales, pero sólo en contados casos se produce enfermedad.

N. meningitidis se clasifica en **12 serogrupos** (según la estructura del polisacárido capsular) y en serotipos y subserotipos (según las proteínas de la membrana externa). El papel desempeñado por cada uno de los serogrupos de mayor relevancia epidemiológica (**A, B, C, W-135 e Y**) varía enormemente en función del periodo de tiempo y la zona geográfica considerados (**Fig. 6**).

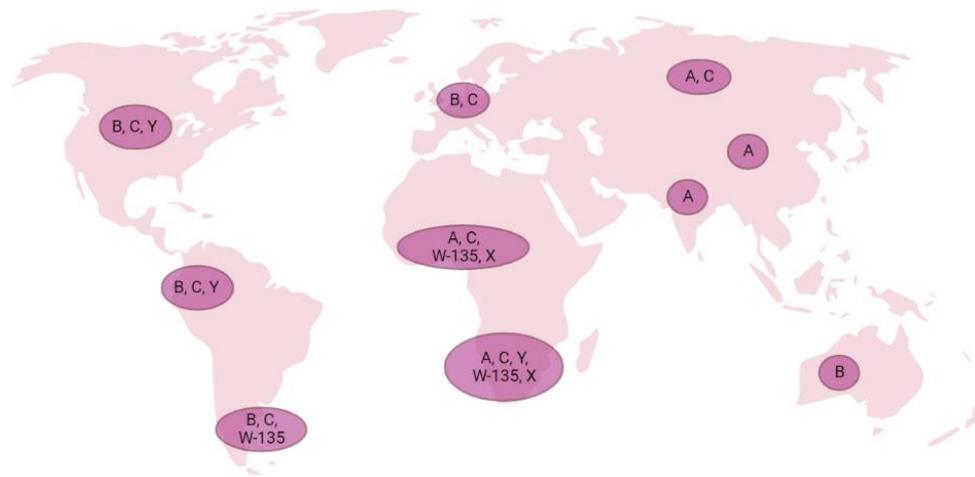


Figura 6. Distribución de los serogrupos meningocócicos comunes y predominantes por regiones (elaboración propia)

1.1.2. *Neisseria gonorrhoeae*

N. gonorrhoeae es adquirida a través del **contacto sexual**, estableciéndose en las mucosas del tracto urogenital y es el causante de la enfermedad de transmisión sexual conocida como gonorrea. La gonorrea tiene una incidencia anual de unos 100 millones de casos en todo el mundo. Siendo África y la región occidental del Pacífico donde se dan la gran mayoría de los casos. Además, la expansión de **resistencia a antibióticos** (**Fig. 7**) en muchos aislados está aumentando el temor a que también aumente la incidencia en los países desarrollados.

La bacteria es capaz de invadir a las células epidérmicas no ciliadas y alcanzar la lámina basal, lo que va a conducir a una respuesta inflamatoria con el correspondiente influjo de leucocitos polimorfonucleares (PMN). Muchos de los PMNs van a ser secretados en los exudados típicos que acompañan a la infección del gonococo.

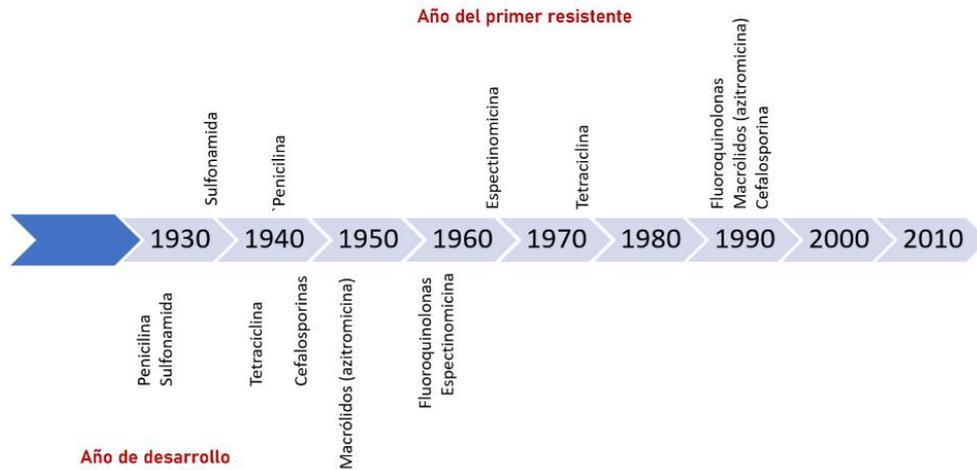


Figura 7. Desarrollo de los antibióticos y aparición de la primera resistencia a los mismos en la especie *N. gonorrhoeae* (elaboración propia)

En la **Figura 8** se observan las diferentes etapas en la infección por *Neisseria gonorrhoeae*. Tiene lugar la adhesión inicial al epitelio a través de los pili tipo IV y las proteínas Opa (1). La bacteria puede proliferar en la superficie epitelial, compitiendo con la microbiota residente y formando microcolonias. Tras la colonización, la bacteria invade los tejidos subyacentes por transcitosis (2). *N. gonorrhoeae* también libera fragmentos de peptidoglicano, vesículas de membrana externa (OMV) y lipooligosacárido (LOS) (3). Tras la activación de las células dendríticas y los macrófagos por los receptores tipo TLR (Toll-like receptor), estas células producen quimioquinas y citoquinas (4) que pueden reclutar un gran número de leucocitos polimorfonucleares, donde interactúan y fagocitan a la bacteria (5). La afluencia de neutrófilos constituye un exudado purulento que luego facilita la transmisión (6).

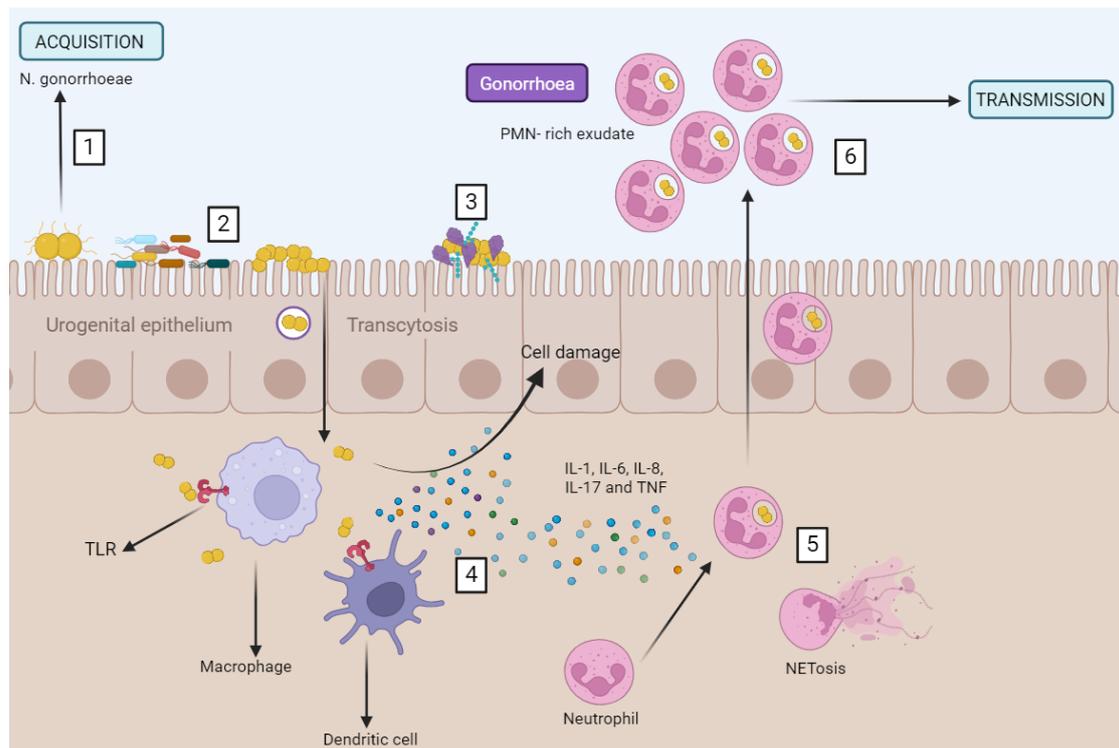


Figura 8. Fases de la infección por *N. gonorrhoeae* (elaboración propia)

Es la respuesta inflamatoria la causante de las distintas manifestaciones clínicas, que afectan fundamentalmente a los hombres, pues en las mujeres la infección es frecuentemente asintomática.

Si bien, en las mujeres, las infecciones pueden producir complicaciones, tales como la **enfermedad inflamatoria pélvica** (PID, *pelvis inflammatory disease*). Como consecuencia de la respuesta inflamatoria frente a la infección se produce un bloqueo en la trompa de Falopio, lo que es causa de **infertilidad** o de desarrollo de **embarazos ectópicos**. También la transmisión materna al niño durante el parto puede ser causa de ceguera neonatal.

En casos poco frecuentes, los gonococos pueden llegar a diseminarse a través del torrente sanguíneo, provocando complicaciones tales como artritis y endocarditis.

Así, estas dos especies son unos típicos colonizadores de mucosas. Además, las patogénesis neiserial y gonococal se caracterizan por inducir fuertes respuestas inflamatorias a la infección.

2. Factores de colonización y virulencia

N. meningitidis se encapsula (se rodea de una cápsula de polisacáridos que la protege del sistema inmunitario, defendiendo a la bacteria del complemento y la fagocitosis). Por otro lado,

la cápsula es una estructura muy hidratada, lo que se piensa va a proteger a la bacteria durante la transmisión aérea entre hospedadores. Los gonococos, en cambio, carecen de cápsula polisacáridica, lo que les hace especialmente sensibles a la desecación, lo que explica la necesidad de un contacto íntimo para que se dé la transmisión.

Para adherirse a las células y tejidos, estas bacterias poseen unas estructuras, denominadas Pili, que sobresalen de la cápsula polisacáridica. La formación de pilis es un requisito para el anclaje a la membrana de la célula epitelial. A la adhesión también contribuyen otras proteínas situadas en la membrana externa, que son Opa y Opc (**Fig. 9**). Estas adhesinas parecen ser las responsables de especificidad de hospedador, y de tejido (**Tabla 3**).

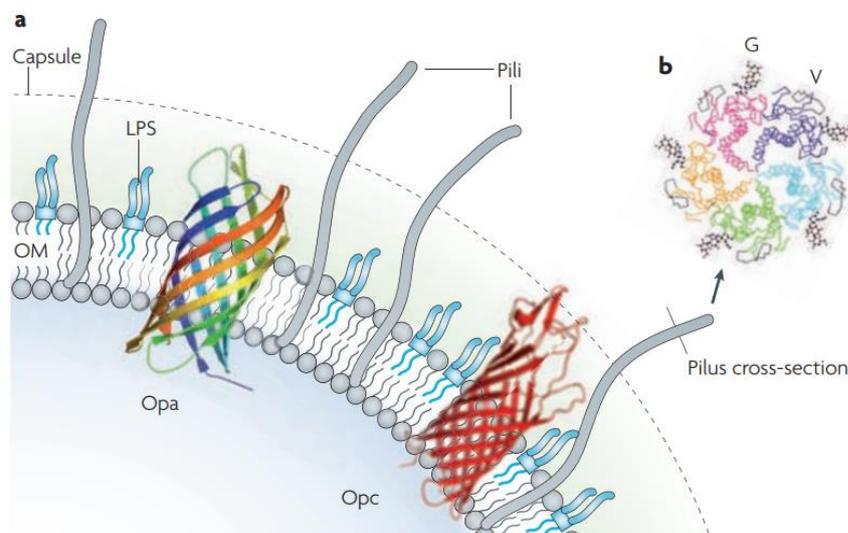


Figura 9. Componentes de la membrana externa de *N. meningitidis* que influyen en la interacción de la bacteria con la célula hospedadora (Virji et al, 2009)

Estructura de superficie	Propiedades	Especies	Características	Destino
Pili tipo IV (pilinas)	15-20 kDa	<i>N. meningitidis</i> y <i>N. gonorrhoeae</i>	Fibras poliméricas extendidas y variación antigénica	Células epiteliales humanas, células endoteliales y glóbulos rojos
Opa	24-35 kDa	<i>N. meningitidis</i> y <i>N. gonorrhoeae</i>	β -barril de ocho cadenas y variación antigénica	Células epiteliales humanas y fibronectina
Opc	24-35 kDa	<i>N. meningitidis</i> y <i>N. gonorrhoeae</i>	β -barril de diez cadenas	Células epiteliales humanas, células endoteliales, vitronectina activada y fibronectina

Tabla 3. Proteínas involucradas en la función de adhesión e invasión (*elaboración propia*)

Además de para la adhesión, los Pili están implicados en otras funciones. Por un lado, como veremos más adelante, intervienen en la captación de DNA exógeno, aumentando la frecuencia de transformación de la bacteria, lo que contribuye a la diversidad genética de *Neisseria*. Por otro lado, los Pili son estructuras dinámicas, que se ensamblan y desensamblan de forma rápida, lo que permite a las bacterias deslizarse sobre la superficie celular a la nada despreciable velocidad de 1 micra por segundo.

En la **Figura 10**, que ilustra la estructura de la membrana de *N. meningitidis*, están presentes también las porinas A y B, que son proteínas que facilitan la supervivencia intracelular al evitar la fusión de los fagolisosomas y los neutrófilos.

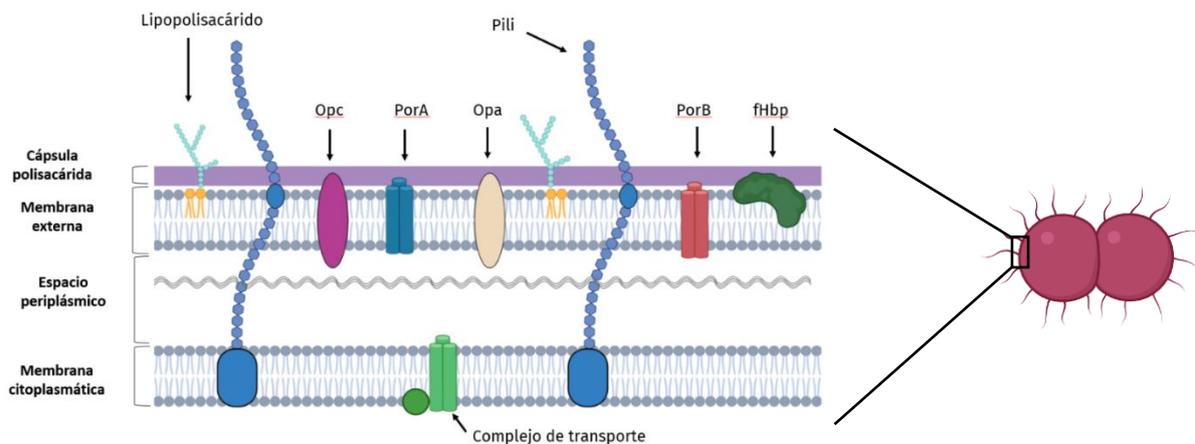


Figura 10. Estructura de la membrana de *N. meningitidis*

3. Transferencia horizontal de genes

Parece ser que existe un flujo horizontal continuo de material genético que afecta la composición cromosomal no sólo de las especies *Neisseria* patogénicas, sino también de muchas especies comensales. Análisis al nivel de genes han demostrado la estrecha relación entre gonococos, meningococos y con *Neisseria lactamica*, una especie comensal.

Existe un gran número de evidencias circunstanciales del intercambio horizontal de genes entre especies comensales y patogénicas de *Neisseria*, entre meningococos y gonococos generando genes mosaico.

El intercambio genético horizontal puede ser entendido como un mecanismo de adaptación apropiado para responder a cambios ambientales bruscos y para asegurar la flexibilidad genética de las especies de *Neisseria* como un grupo colectivo de aparentemente independientes, pero verdaderamente conectados caracteres.

El contraste llamativo entre la clonalidad estricta de *Salmonella* y *E. coli* y la estructura de red clonal de *Neisseria* parece tener reflejo en las diferencias distintivas en la organización

cromosomal de los genes de estas especies. El cromosoma de *E. coli* exhibe un grado considerable de organización en cuanto, por ejemplo, el ligamiento de genes relacionados, la presencia de operones y la orientación transcripcional de los genes. Por lo contrario, los mapas físicos de gonococos han revelado que muchos genes funcionalmente relacionados se encuentran distribuidos dispersos en el genoma. Muchos genes que normalmente están organizados en operones en otras especies se encuentran separados en los gonococos.

Hasta ahora, no otros procesos distintos a la transformación han sido encontrados que puedan explicar el intercambio horizontal de los genes cromosomales en *Neisseria*. Bacteriófagos no se han identificado, y aunque existen plásmidos conjugativos que contribuyen a la resistencia a antibióticos, éstos no movilizan secuencias cromosomales (**Fig.11**).

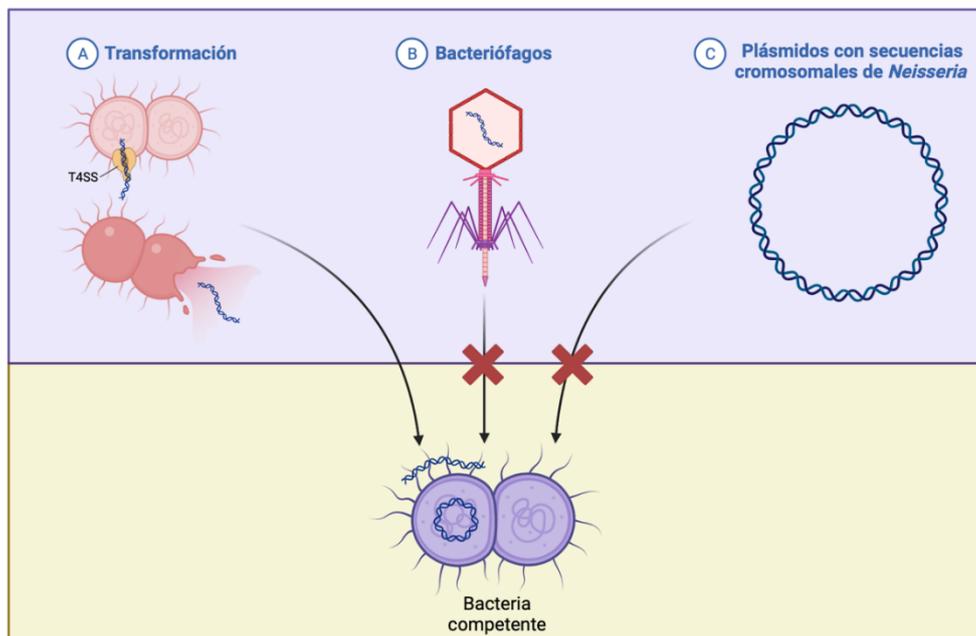


Figura 11. Procesos de transferencia horizontal de genes cromosomales encontrados (A) y aparentemente no existentes (B y C) en *Neisseria*. Imagen elaborada con BioRender.

La habilidad de las especies de *Neisseria* para experimentar transformación de DNA en condiciones naturales se conoce desde hace muchos años. El intercambio horizontal de marcadores cromosomales vía transformación se observa fácilmente mediante co-cultivo de diferentes cepas de *Neisseria in vitro*. En un experimento típico la eficiencia de transferencia entre dos cepas gonococales después de 1 h de co-cultivo es del orden de 10^{-5} por célula y locus génico (**Fig. 12**).

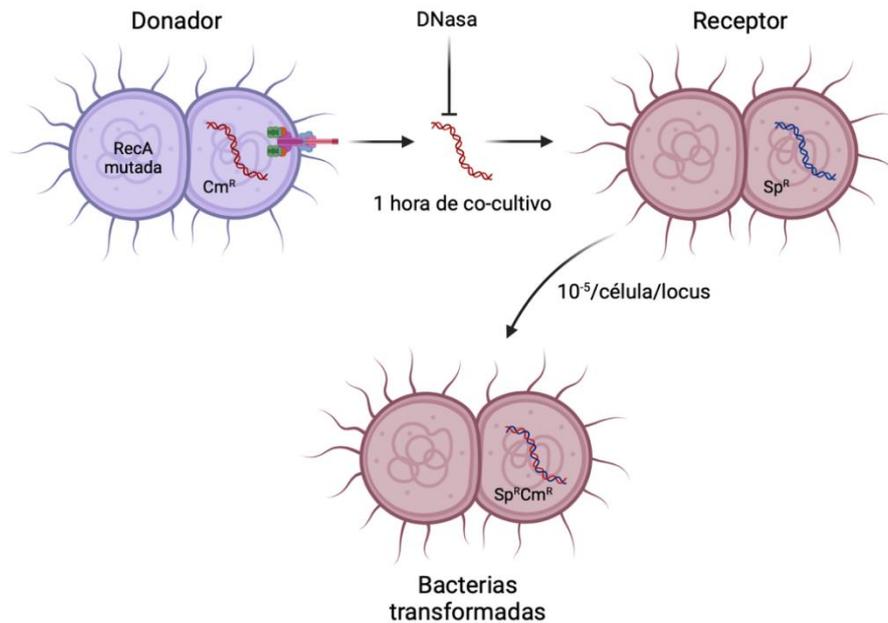


Figura 12. Experimento de co-cultivo de diferentes cepas de *Neisseria in vitro* para observar la eficiencia de transferencia entre dos cepas gonococales. La bacteria donadora porta un marcador de resistencia a cloranfenicol (Cm^R), mientras que la bacteria receptora porta un marcador de resistencia a espicinomicina (Sp^R). Además, la bacteria donadora porta una mutación en RecA para que no pueda actuar como receptora. Tras la transformación, las bacterias se cultivan en placas con los dos antibióticos para identificar a las bacterias transformadas. *Imagen elaborada con BioRender.*

El proceso es completamente inhibido por la presencia de DNasa en el medio de cultivo lo que indica que hay una liberación sustancial de DNA, accesible a la DNasa, al medio. Cómo el DNA es liberado al medio no ha sido estudiado en detalle; sin embargo, la alta tasa de autólisis espontánea que experimenta *Neisseria* cuando alcanza la fase estacionaria de crecimiento puede ser una explicación.

Resultados recientes apuntan un mecanismo adicional que estaría implicado en el proceso de transformación en gonococos. La mayoría de los aislados de gonococos presentan una agrupación génica (isla de patogenicidad de 57-kb, que presenta un contenido en G+C menor que el promedio del resto del genoma) que codifica para un sistema de secreción tipo IV que parece estar implicado en liberar al medio DNA transformante sin que se produzca lisis celular.

Adicionalmente, cabe destacar que las bacterias Gram negativas son capaces de secretar vesículas de membrana externa (OMVs), las cuales pueden ser portadoras de material genético. Por tanto, la exposición de estas bacterias a otras bacterias distintas puede dar lugar a eventos de intercambio horizontal de genes mediante secreción de OMVs. El material genético puede

estar unido a la superficie externa de las OMVs o estar presente en su lumen. La ventaja de este mecanismo es que las OMVs proporcionan un entorno protegido para el material genético fuera de las bacterias (**Fig. 13**).

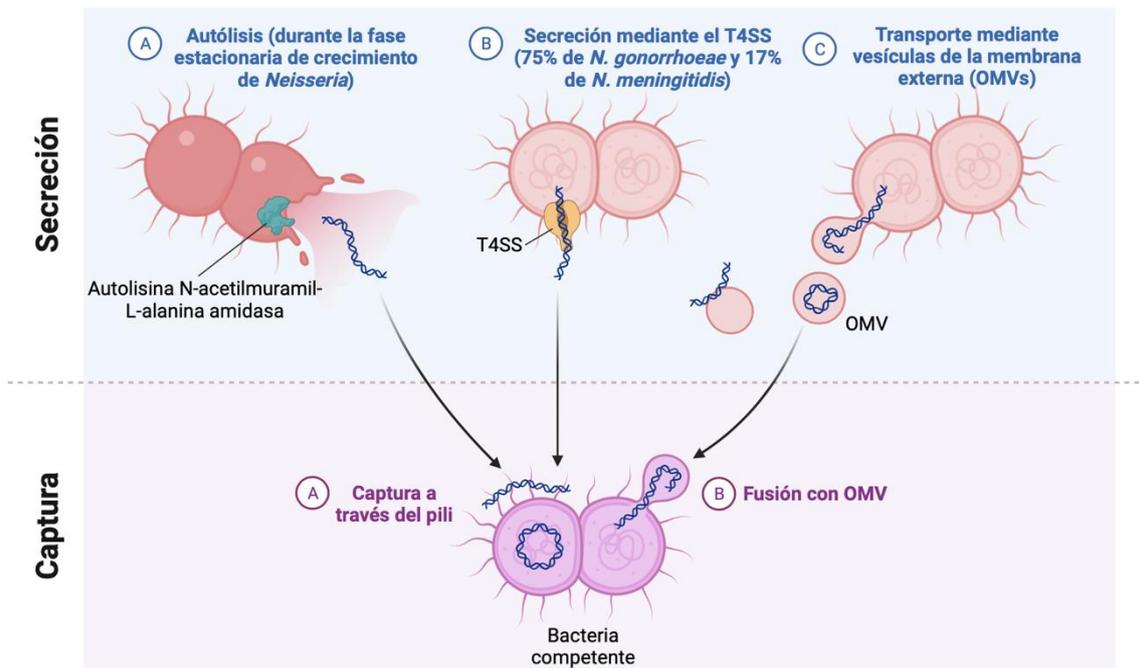


Figura 13. Mecanismos de secreción y captura de DNA de *Neisseria* durante el proceso de transformación (el transporte de DNA mediante OMVs es un mecanismo general de ciertas bacterias Gram negativas, no específico de *Neisseria*). Imagen elaborada con BioRender.

En la **Figura 14** se muestra el modelo hipotético sobre el funcionamiento de este sistema de secreción de DNA. Las proteínas ParA y ParB se encargan de llevar DNA cromosomal al sistema de secreción tipo IV. La enzima relaxasa TraI produce roturas en el DNA, y el DNA es desplegado por la helicasa Yea. El DNA de cadena sencilla, unido a la proteína TraI, es secretado al medio extracelular de manera no dependiente de contacto celular. Las transglicosilasas AtIA y LtgX producen roturas locales en el peptidoglicano para permitir que el sistema se ensamble.

Existen datos que implican a los pilis en la captación e importación del DNA extracelular hacia el interior de la bacteria. También se ha visto que existe una preferencia por captar DNA con secuencias DUS (*DNA uptake signals*, 5'-GCCGTCTGAA-3').

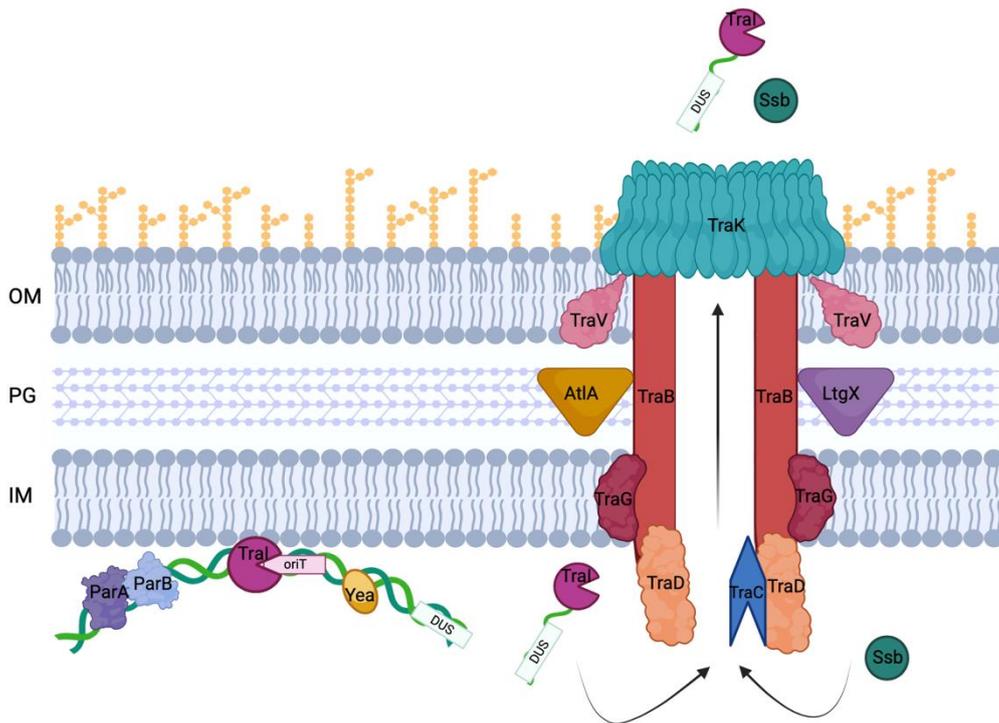


Figura 14. Modelo de sistema de secreción tipo IV de *Neisseria* anclado a través de la membrana interna (IM), la capa de peptidoglicano (PG) y la membrana externa (OM) de la bacteria. *Imagen elaborada con BioRender.*

Estas secuencias se encuentran con frecuencia en las regiones de apareamiento de los terminadores transcripcionales Rho independientes. Así, en las 2,15 Mb que componen el genoma de *N. gonorrhoeae* existen 1965 copias de la secuencia DUS, lo que da un promedio de 1 elemento DUS por cada 1096 pb de genoma.

La existencia de una preferencia para captar fragmentos de DNA con secuencia DUS sugiere una preferencia de *Neisseria* por experimentar transformación con DNA de bacterias muy relacionadas.

En la **Figura 13** y en la **Figura 14** se muestra el mecanismo propuesto para explicar el proceso de transformación que ocurre entre bacterias del género *Neisseria*. La primera etapa, donación de DNA, en la mayoría de las especies va a ocurrir mediante autólisis. En el 75% de los aislados de *N. gonorrhoeae* y en el 17% de las cepas meningococales, además, la donación de DNA puede ser mediada por el sistema de secreción tipo IV presente en una isla de patogenicidad. Como se ha explicado previamente, existe otro mecanismo adicional característico de ciertas bacterias Gram negativas en general, el cual se trata de la secreción de OMVs conteniendo el material genético de la bacteria donadora, y que podría también operar en *Neisseria*.

La autólisis parece ocurrir principalmente durante la fase estacionaria de crecimiento o en condiciones de estrés celular (falta de nutrientes, temperatura no óptima, etc.). La principal autolisina caracterizada *in vitro* es una N-acetilmuramil-L-alanina amidasa, que es responsable de la hidrólisis del peptidoglicano (**Fig. 13**).

La segunda etapa, unión del DNA y entrada, es dependiente de los Pili tipo IV. Hasta el momento, se han implicado a diversas proteínas constituyentes del Pili, así como otras proteínas asociadas (**Fig. 15**). Así, ComP y PilV parecen estar implicadas en la unión a DNAs con secuencias DUS. Una vez atravesada la membrana externa, ComE se une al DNA y ayuda a la transformación, mientras que Tpc y ComL parecen ayudar a que el DNA cruce la capa de peptidoglicano. PilT y ComA, finalmente, parecen las encargadas de ayudar al DNA para que cruce la membrana interna y acceda al citoplasma. Una vez en el citoplasma, el DNA debe ser procesado (tercera etapa). *N. gonorrhoeae* contiene unas 16 metiltransferasas, muchas de las cuales tienen sus correspondientes endonucleasas que, en conjunto, constituyen una magnífica barrera de restricción frente a plásmidos transformantes. Esto ha llevado a plantear que mucho del DNA adquirido en este proceso ha debido ser convertido a ssDNA en el periplasma, lo que lo hace resistente a las endonucleasas.

Por otro lado, *N. meningitidis* es capaz de restringir la transformación por DNA mediante un sistema CRISPR/Cas (no existente en los aislados de gonococos). Pequeñas secuencias palindrómicas agrupadas en locus (CRISPR, *clustered, regularly interspaced, short palindromic repeat*) actúa como sistema de inmunidad basado en la habilidad de la nucleasa Cas (*CRISPR-associated*) para degradar DNAs entrantes que contengan alguna de las secuencias del locus CRISPR.

Este sistema, además de proteger a la bacteria frente a fagos invasores o plásmidos conjugativos, es utilizado para defenderse frente a DNA transformante.

Finalmente, el ssDNA, generado tras la acción de varias nucleasas, se une a RecA, que va a mediar la recombinación homóloga con secuencias cromosomales (**Fig. 15**). La proteína RecA se encarga de buscar la secuencia complementaria en el cromosoma bacteriano.

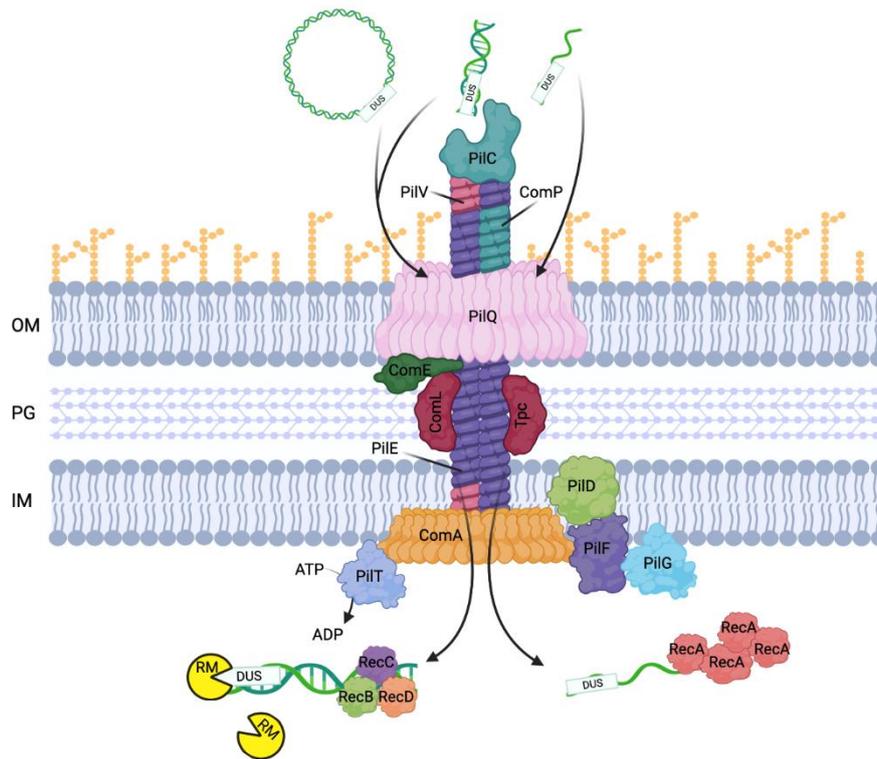


Figura 15. Captura por pili de tipo IV, procesamiento y recombinación homóloga del DNA secretado en *Neisseria*. RecBCD hace referencia a una enzima con funciones helicasa, ya que desenrolla las hebras del DNA, y nucleasa, ya que hace cortes monocatenarios en el DNA. RM hace referencia a enzimas de modificación-restricción. *Imagen elaborada con BioRender.*

Además de ayudar a generar variabilidad antigénica en las proteínas de superficie, la transformación también sirve para expandir la resistencia a antibióticos entre los miembros de la población.

4. Mecanismos de variabilidad genética en *Neisseria*

La variabilidad antigénica es una estrategia muy efectiva, utilizada por muchos patógenos, para evadir la respuesta inmunitaria. Así, la variabilidad de las estructuras expuestas en la superficie permite una heterogeneidad antigénica en la población de microorganismos, lo que permite que algunos de ellos puedan evitar el reconocimiento por la respuesta inmunitaria adaptativa y así prolongar su presencia en el hospedador. Por otro lado, esta variación también puede generar variantes funcionales en las proteínas de superficie con una mejor capacidad para establecer interacciones con moléculas del hospedador y facilitar la expansión del agente infeccioso.

Una característica interesante de algunas de las proteínas variables de superficie en *Neisseria* es que están representadas en el genoma por familias más que por genes individuales.

Dos mecanismos por los que estas proteínas varían sus estructuras pueden ser distinguidos basados sobre si o no el proceso de variación requiere de la proteína RecA. El ejemplo mejor conocido de variación dependiente de RecA lo representa la subunidad mayoritaria de los pili, PilE o pilina, que opera mediante recombinación homóloga intergénica. En el genoma existen muchas copias génicas, de las cuales muchas son copias génicas incompletas (silentes/críticas) no-expresadas (pilS), mientras sólo una o dos de éstas representan las copias génicas expresadas (pilE).

Las copias pilS se encuentran en muchos sitios del cromosoma. Las copias silentes carecen de región promotora, sitio de unión a ribosomas y, además, carecen de la secuencia codificante para la región N-terminal. Estas copias comienzan con información codante por debajo de codón 30 o más abajo; sin embargo, en el extremo 3' todas las copias están completas.

Anteriormente se creía que los loci pilS carecían de elementos promotores, pero algunos de ellos parecen ser transcripcionalmente activos en *N. gonorrhoeae*.

Las copias pilS constituyen el repertorio de secuencias variantes que es empleado para la recombinación con pilE para generar moléculas variantes de pilina.

La recombinación de los genes *pil* parece ocurrir por recombinación no recíproca (semejante a la conversión génica). La secuencia variante del gen silente se duplica y transpone al gen en expresión, reemplazando a la secuencia original presente en el gen en expresión, que se pierde (**Fig. 16**).

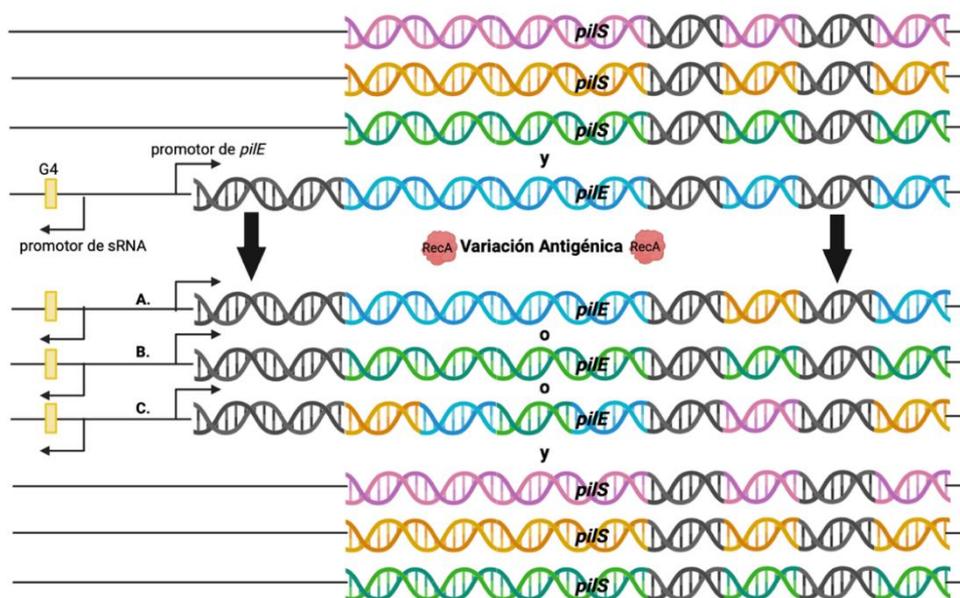


Figura 16. Variabilidad antigénica generada mediante conversión génica en *Neisseria*. La presencia

de un motivo G4 (estructura cuádruplex de DNA) y la transcripción de un transcrito sRNA en su proximidad son importantes para iniciar el proceso de conversión génica. *Imagen elaborada con BioRender.*

Cabe resaltar que este proceso de variación antigénica de la pilina depende de RecA, como se ha mencionado con anterioridad, y, además, de un motivo cuádruplex de guanina (G4) aguas arriba de *pilE*. Es la transcripción de un sRNA aguas arriba de la secuencia G4 la que inicia el proceso de recombinación para dar lugar a la variación antigénica.

A continuación, en la **Figura 17** se muestra detalladamente la vía de iniciación de la variación antigénica, donde desempeñan un papel fundamental el motivo cuádruplex de guanina (G4) y el inicio de la transcripción del sRNA anteriormente comentados.

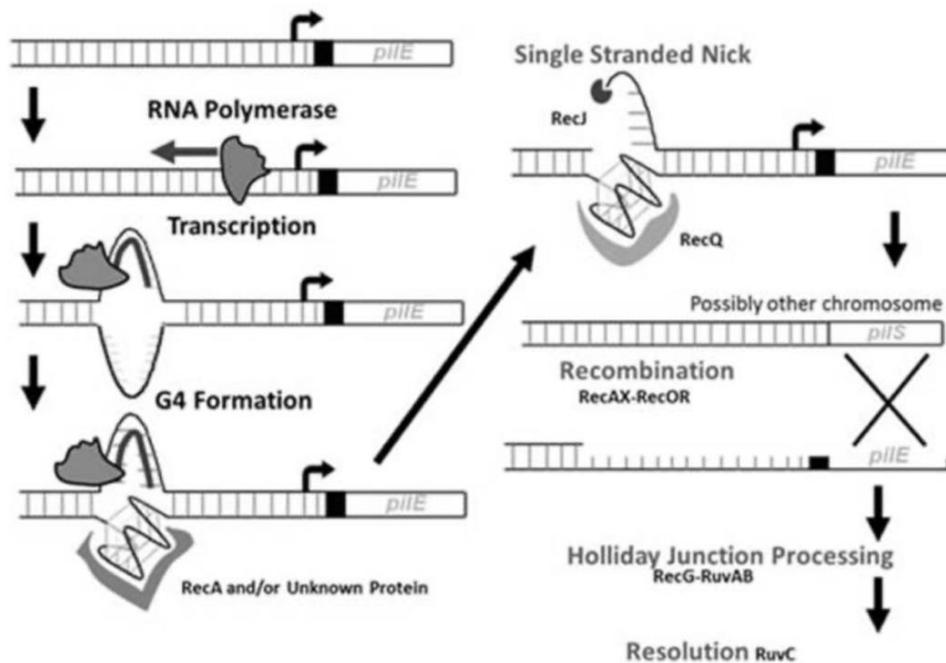


Figura 17. Vía de iniciación de la variación antigénica. La iniciación de la transcripción en el sRNA aguas arriba de *pilE* desaparea el DNA permitiendo que se forme la estructura G4. Una proteína no caracterizada puede unirse al G4 para estabilizar la estructura. En la cadena opuesta al G4 puede producirse una mella de una sola hebra debido a un bloqueo de la horquilla de replicación. RecQ podría desenrollar la estructura G4. RecJ reseca el extremo 5' mellado permitiendo a RecA mediar en la recombinación, posiblemente reforzada por la unión de la estructura G4, con RecOR utilizando regiones de homología entre *pilE* y el donante *pilS*. RecG y RuvABC procesan y resuelven el intermediario de la recombinación. (Obergfell, Seifert, 2015)

Por otro lado, la recombinación puede ocurrir entre genes *pil* situados en el mismo cromosoma o con genes introducidos en la bacteria tras la transformación con DNA exógeno.

En conjunto, estos procesos son responsables de una elevada frecuencia de recombinación que se ha estimado en aproximadamente 5×10^{-4} sucesos/célula/generación.

A través de estos mecanismos de variación, junto a la eficiencia de transformación natural que tienen las especies de *Neisseria*, hace que el repertorio potencial de diferentes secuencias de aminoácidos para las pilinas de *Neisseria* se ha calculado ser mayor de 10^7 variantes.

Debido a esta notable variabilidad, los pili bacterianos pueden evadir eficientemente la respuesta inmunitaria humana.

Contrario a los genes *pilE*, los genes codificantes para las proteínas Opa y PilC representan variantes génicas completas que experimentan frecuentes cambios de activación (on/off) pero raramente recombinan entre sí.

Estos cambios de expresión ocurren a través de un mecanismo de deslizamiento de DNA independiente de RecA que implica secuencias de nucleótidos repetidas dentro de las regiones codificantes de los genes; la variación del número de unidades de repetición altera la fase de lectura y consecuentemente afecta la traducción en productos génicos no funcionales (**Fig. 18**).

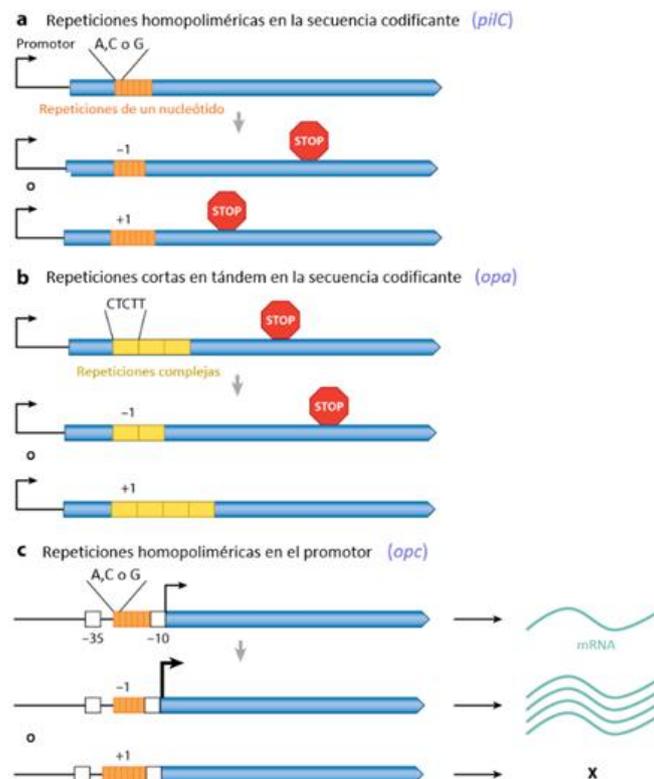


Figura 18. Mecanismos de activación ON/OFF por deslizamiento en DNA. Imagen modificada a partir de Rotman & Seifert (2014).

En el caso de los genes *opa*, la unidad de repetición es una secuencia pentamérica (CTCTT) mientras que los genes *pilC* son controlados mediante una fila de residuos C; ambas “repeticiones codificantes” (CR) se localizan en la parte de los genes que codifica para el péptido señal que dirige la secreción de la proteína (**Fig. 19**).

En el caso de los genes *opa*, la unidad de repetición es una secuencia pentamérica (CTCTT) mientras que los genes *pilC* son controlados mediante una fila de residuos C; ambas “repeticiones codificantes” (CR) se localizan en la parte de los genes que codifica para el péptido señal que dirige la secreción de la proteína (**Fig. 19**).

La variación por CR es un proceso extremadamente frecuente que afecta a 1 de cada 100 descendientes de una célula parental.

Otro método de controlar la expresión de un gen vía una secuencia repetida ocurre en el gen meningococal *opc*, donde un homopolímero variable de C, localizados entre los elementos reguladores -35 y -10 del promotor *opc*, va a alterar la actividad transcripcional, al influir sobre la interacción de la RNA polimerasa con el promotor (**Fig. 20**).

Los mecanismos responsables de esta alteración del número de repeticiones, y la subsiguiente expresión del producto génico, se piensa que van a operar al nivel de la replicación del DNA.

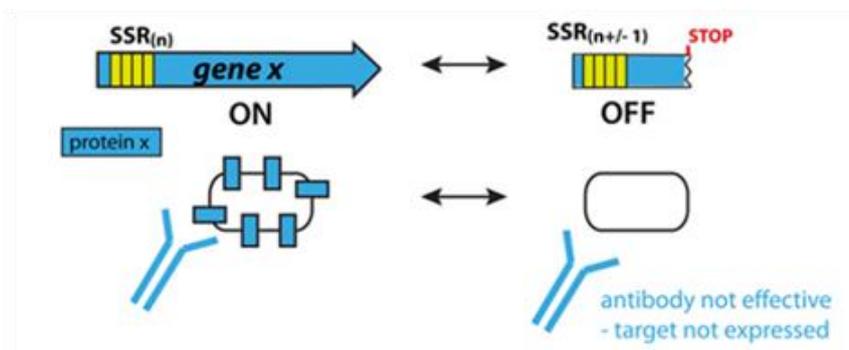


Figura 19. Mecanismo ON/OFF por variación de fase en la ORF y su relación con la evasión de la respuesta inmunitaria. *Tan, Aimee et al. (2016).*

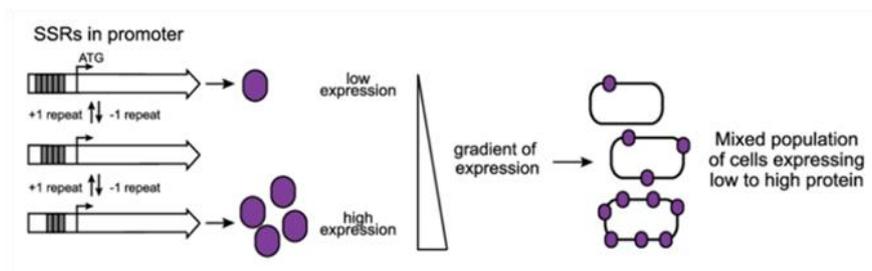


Figura 20. Mecanismo ON/OFF por variación de fase en el promotor y la expresión diferencial de la proteína. *Phillips, Zachary N et al. (2019).*

Variación de cambios de fase en genes de DNA metiltransferasas y su implicación en la evasión de la respuesta inmunitaria

También se ha visto que los cambios en regiones hipermutables, con un número de repeticiones tetraméricas y pentaméricas, en la secuencia de DNA de metiltransferasas (gen *mod*), debido a inserciones o deleciones, también desencadenan el mecanismo ON-OFF. Esto conduce a la expresión (o silenciamiento) de las metiltransferasas, desencadenando, por lo tanto, todo un conjunto de cambios epigenéticos, que afecta a la expresión de genes asociados a una variedad de funciones, entre las que se encuentran la adaptación y supervivencia a nuevos entornos y situaciones, y la evasión inmunitaria. Así mismo, también puede generar variabilidad en la resistencia antimicrobiana y formación de biofilms. (Fig. 21).

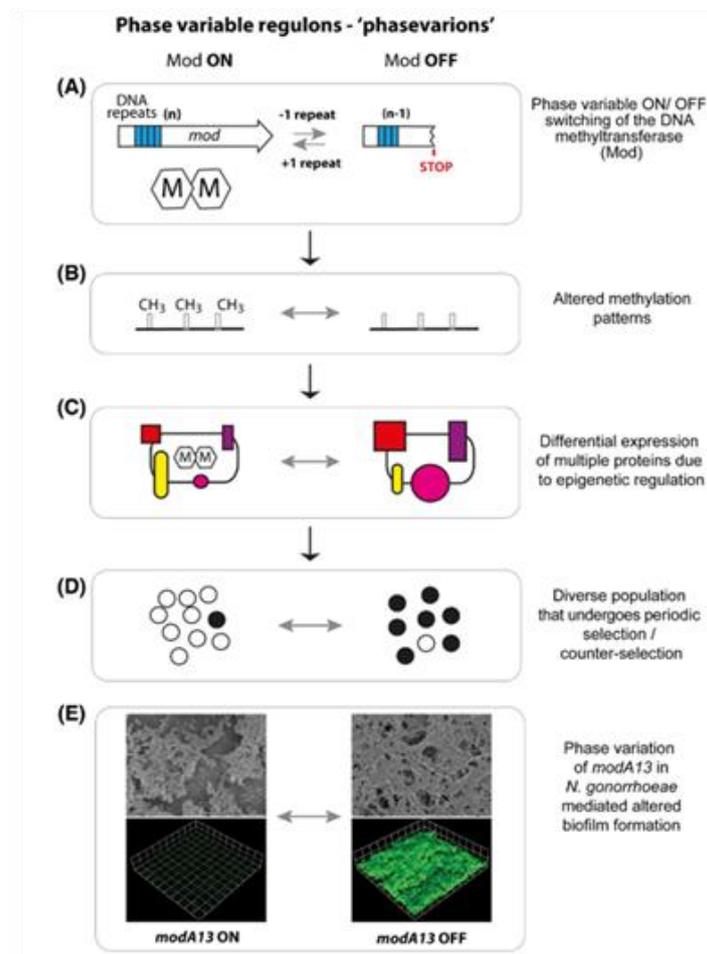


Figura 21. Representación del mecanismo de regulación ON-OFF en metiltransferasas y su implicación en la selección de individuos. *Seib et al. (2017)*.

5. Relevancia funcional de la variación genética

5.1. Los pili

Los pili, unas organelas que sobresalen de la superficie bacteriana, son un requerimiento absoluto para la iniciación de una infección al actuar de anclaje de la bacteria con las células epiteliales. Estas estructuras también se han relacionado con la capacidad de transformación por DNA exógeno que tienen estas bacterias.

La unión de los pili parece ser específica hacia las células humanas y, por tanto, los pili representan un determinante fundamental del tropismo de especie de *Neisseria*.

Debido a su localización también son dianas fuertes para la respuesta de anticuerpos. Sin embargo, los esfuerzos para desarrollar una vacuna basada en los pili han fracasado debido a la enorme variabilidad de los pili, y particularmente de la pilina.

Por tanto, permanece como una cuestión crucial el explicar cómo los pili engañan al sistema inmunitario mientras que siguen cumpliendo su función de adhesinas. Este problema tiene grandes implicaciones teóricas y prácticas que no están necesariamente restringidas al sistema *Neisseria*.

Además de las funciones comentadas, encontramos también la capacidad de señalización según su posibilidad de movimiento y según su situación en el espacio; ya sea quimiotaxis, fototaxis o agrupándose en micro colonias donde se adhieren y asocian unas con otras (**Fig.22**). También se han caracterizado en los últimos años, mecanismos nuevos que contribuyen en la virulencia de *Neisseria* a través de sus pilis tipo IV (T4P), estos son:

Alteración de la homeostasis vascular, induciendo la depleción de proteínas que participan en las uniones adherentes célula-célula y la formación de estas mallas de agrupaciones del microorganismo, además puede alterar la regulación de las vías de coagulación, procesos que pueden facilitar la invasión y contribuir al estado de sepsis característico de la infección.

Activación de receptores β_2 adrenérgicos, mediante retracción de los pili y cambios en la forma del endotelio, los cuales activan esta vía que, entre otros mecanismos, ayuda a la acumulación de adhesinas endoteliales en la zona de anclaje. Muchas de estas adhesinas son fundamentales en el reclutamiento leucocitario hacia las células endoteliales; la concentración de estas y otros ligandos pro-inflamatorios cubiertos bajo la bacteria en el endotelio, evita el acoplamiento de leucocitos, los cuales no van a poder encontrar los ligandos ocultos. (**Fig. 22**).

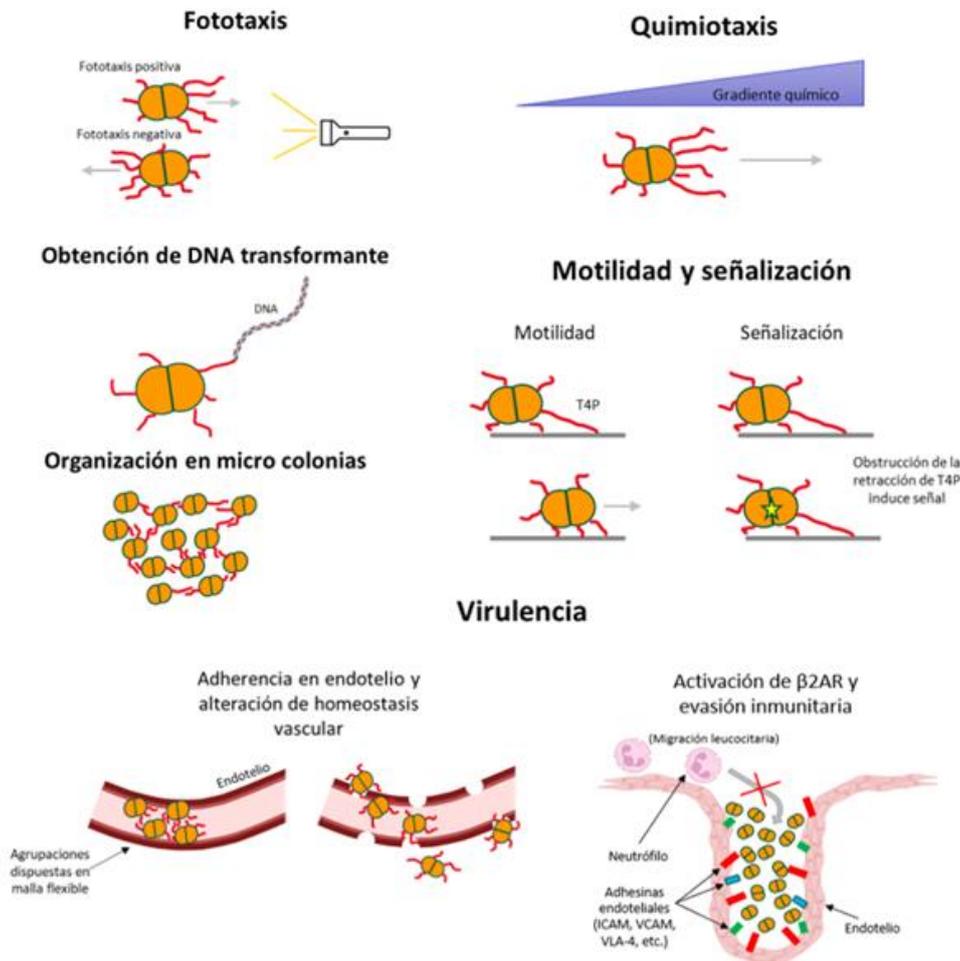


Figura 22. Funciones de los pili tipo IV. *Elaboración propia.*

5.2. Evasión de la respuesta inmunitaria y variación adaptativa

Es interesante distinguir entre las dos funciones principales de la variación genética, es decir, una función de evasión y una función adaptativa, como se ilustra en las **Figuras 23 y 24**.

La variabilidad extrema de la subunidad mayoritaria del pili (PilE) hace que represente un factor de escape o evasión. Sin embargo, ¿cómo se consigue mantener la integridad funcional?

Existen, al menos, dos funciones conservadas en los pili, una es la polimerización de los pili, y, en segundo lugar, la interacción con un receptor conservado. La función de polimerización no es problemática debido a que ésta implica una región hidrofóbica conservada de PilE que ni está expuesta en superficie ni es inmunosusceptible. Además, como se indicó arriba, esta región situada en el extremo N-terminal no está sometida a recombinación y variación (ver **Fig. 23**).

La cuestión es, sin embargo, cómo acomodar la función conservada de unión a receptor dentro de un contexto tan altamente variable como son los pili. Para solucionar este problema, la bacteria hace uso de una adhesina minoritaria, PilC, que es mucho menos variable. Datos recientes indican que PilC interacciona con el receptor celular CD46, que se encuentra en muchas células humanas y es también el receptor del virus del sarampión.

En conclusión, la variación PilE sirve principalmente para proteger a los pili de la interacción con los anticuerpos, pero parece inadecuada para modular la especificidad de receptor.

Para la variación adaptativa, el mecanismo genético subyacente debe evitar mutaciones y recombinaciones que conduzcan a fenotipos inviables, sino más bien debe basarse en la utilización de series preseleccionadas de genes. Esta situación se encuentra en el sistema de genes opa. Cada gen opa codifica una proteína Opa funcional capaz de reconocer distintos receptores celulares.

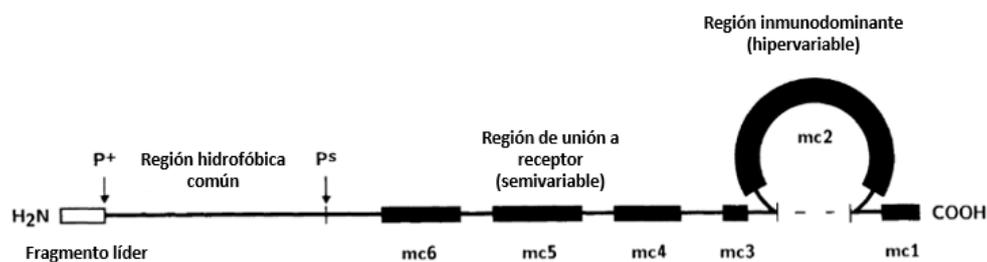


Figura 23. Representación de la secuencia de pilE y la variabilidad de las regiones que la conforman. Modificada a partir de Dangl (Ed.) (1990).

5.3. Tropismos celulares de las proteínas opaque (Opa)

Las proteínas Opa (de opacidad) son constituyentes mayoritarios de las membranas externas de las especies patogénicas de *Neisseria*. Son proteínas de un peso molecular en torno a 28-kDa, de carácter básico. El número de genes opa presente en gonococos (más de 12) es considerablemente mayor que el presente en meningococos (3-4).

Las proteínas Opa desempeñan un papel destacado en varias funciones adherentes, tales como adhesión interbacteriana e interacción con las células epiteliales humanas y células fagocíticas.

Se sabe que las adhesinas variables Opa y Opc son importantes determinantes del tropismo celular de *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis* y que la variabilidad de estas proteínas permite interacciones con múltiples tipos de células.

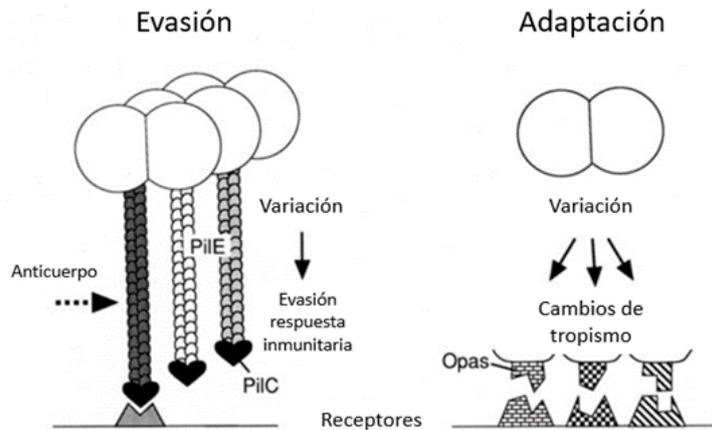


Figura 24. Función de evasión y adaptación de *Neisseria* gracias a la variabilidad genética en los genes pilE y opa, respectivamente. Imagen modificada a partir de Dangl (Ed) (1990).

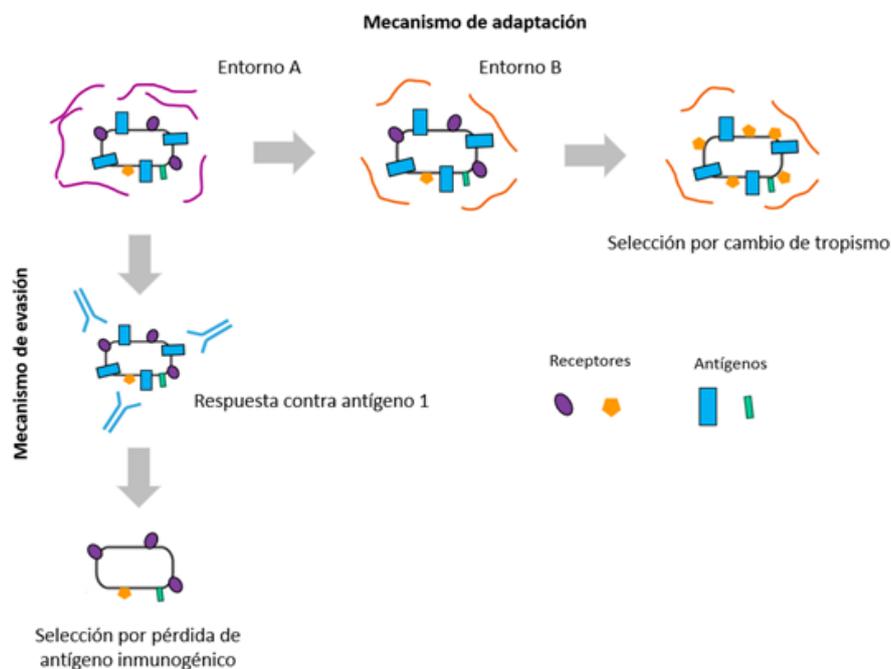


Figura 25. Mecanismos de supervivencia de *Neisseria* mediante su capacidad de variación. Elaboración propia.

PorB y evasión del Sistema inmunitario.

PorB es una porina que participa en el intercambio de iones con el medio extracelular. Es la proteína de membrana externa más abundante y se ha demostrado su implicación en modificar tanto la respuesta a antibióticos como la respuesta inmunitaria. De hecho, recientes estudios han considerado esta proteína como el antígeno con más variabilidad de todos los mencionados, con múltiples regiones hipervariables y con solo 20 residuos conservados (considerados esenciales) en toda la cadena.

Métodos de modulación del SI mediante PorB (**Fig.26**):

- **Facilita la invasión de células epiteliales** y su posterior transcitosis. PorB interacciona con los receptores SREC-1 (receptor scavenger de células endoteliales 1) y gp86 (glicoproteína de choque térmico 86). Además, también puede unirse a CR3 (Receptor del complemento 3), eso sí, requiriendo la presencia de iC3b y de pilis.
- Induce **apoptosis en macrófagos**. Una vez fagocitada, la proteína PorB cuando se introduce en macrófagos en su conformación nativa, desde vesículas formadas desde la membrana externa, colocaliza con las mitocondrias e induce la apoptosis.
- **Suprime la estimulación de linfocitos CD4⁺** por las células dendríticas.
- **Evasión del complemento**. PorB recluta reguladores negativos del complemento como C4BP (C4b Binding Protein) y el factor H¹⁶.

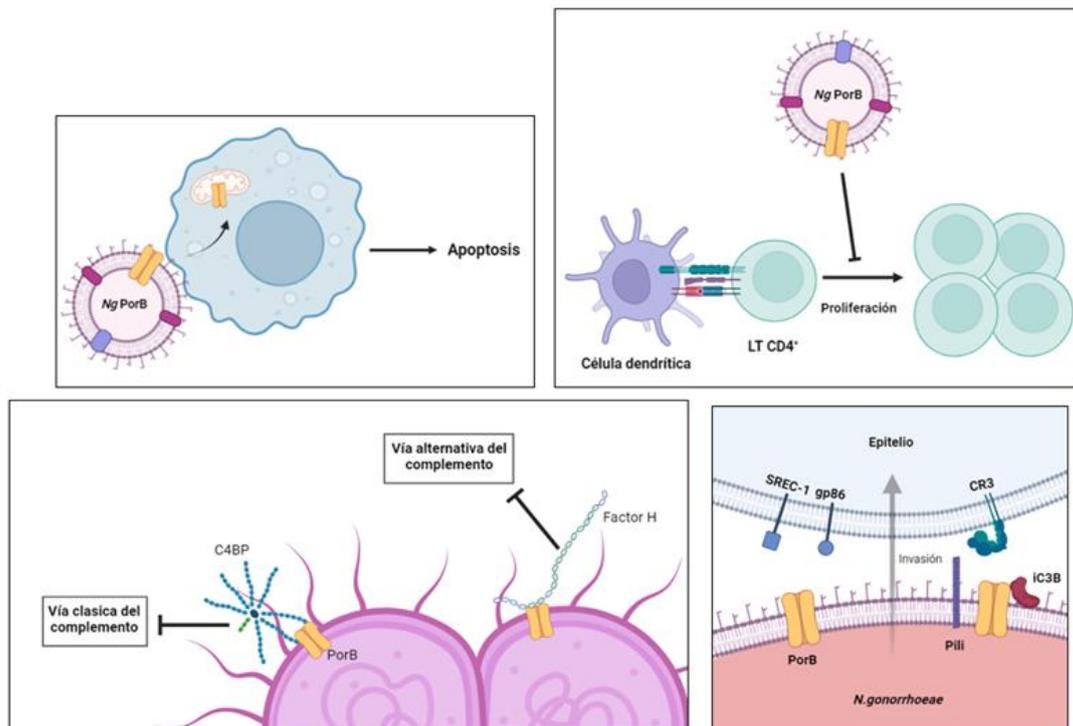


Figura 26. Mecanismos de modulación de la respuesta inmunitaria hacia *N. gonorrhoeae* mediados por PorB. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

6. Papel de los neutrófilos en la patogénesis de *Neisseria*

El sello clínico de la infección por las neisierias patogénicas es una respuesta inflamatoria inducida por el sistema inmunitario innato, que se caracteriza por un importante influjo de neutrófilos. El subsecuente daño en los tejidos permite el acceso de las bacterias a sitios anatómicos secundarios, lo que va a ocasionar la morbilidad y la mortalidad asociadas a las infecciones neisieriales. Para *N. meningitidis*, estos sitios incluyen el torrente sanguíneo, la piel y las meninges, y para *N. gonorrhoeae* las trompas de Falopio, el corazón, la piel y las articulaciones. Las infecciones en estos sitios producen coagulación intravascular y shock séptico por *N. meningitidis* y enfermedad inflamatoria pélvica, dermatitis, endocarditis y artritis por *N. gonorrhoeae* (Fig. 27).

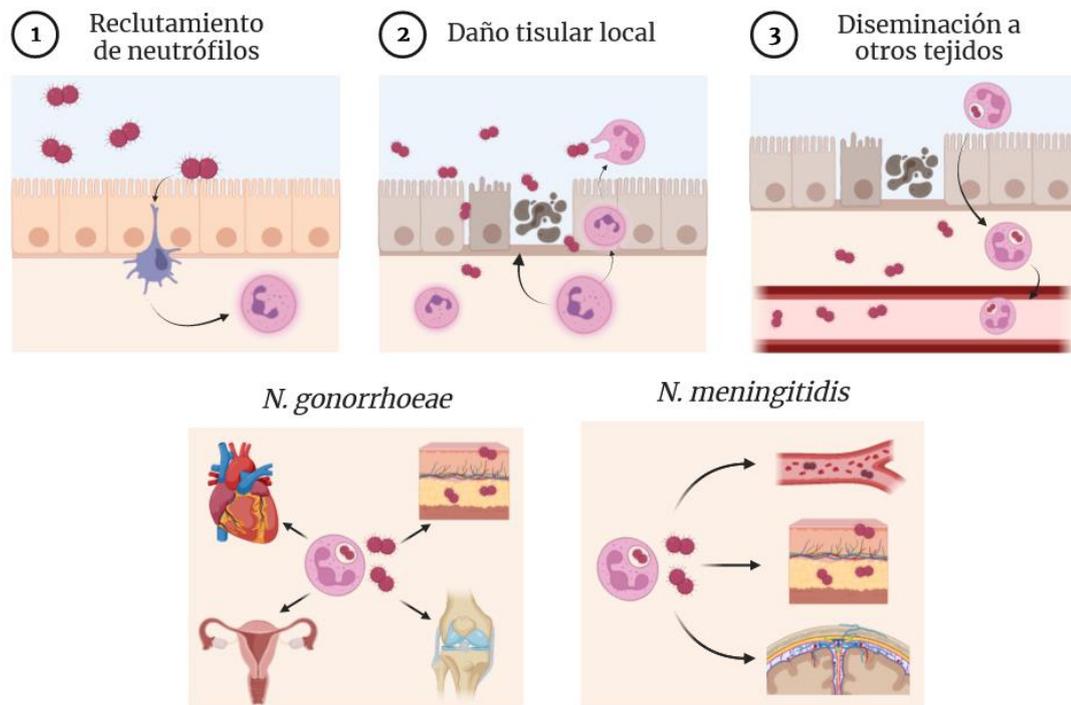


Figura 27. Etapas en la infección por *Neisseria* y tejidos principales en los que se produce la diseminación. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

La primera etapa en la infección es la colonización del epitelio de las mucosas (Fig. 28). Como se ha indicado antes, los Pili tipo IV junto con las proteínas Opa son los responsables del anclaje inicial a las células epiteliales de las superficies de las mucosas.

La presencia de neisseria, al igual que la de otras bacterias, va a ser detectada por las propias células epiteliales y células centinelas del sistema inmunitario presentes en el epitelio, entre las que se encuentran las células T_H17 (“T helper 17”), macrófagos y células dendríticas.

Estas células van a detectar la infección a través de las moléculas asociadas a la membrana TLR (*Toll-like receptors*) y los receptores citoplasmáticos NLR (*NOD-like receptor*). Como consecuencia, la infección por las neiserias patogénicas promueve la liberación local de IL-8, IL-6, TNF, IL-1 β y otras citoquinas, creando un microambiente que atrae y recluta a los neutrófilos (**Fig. 28**).

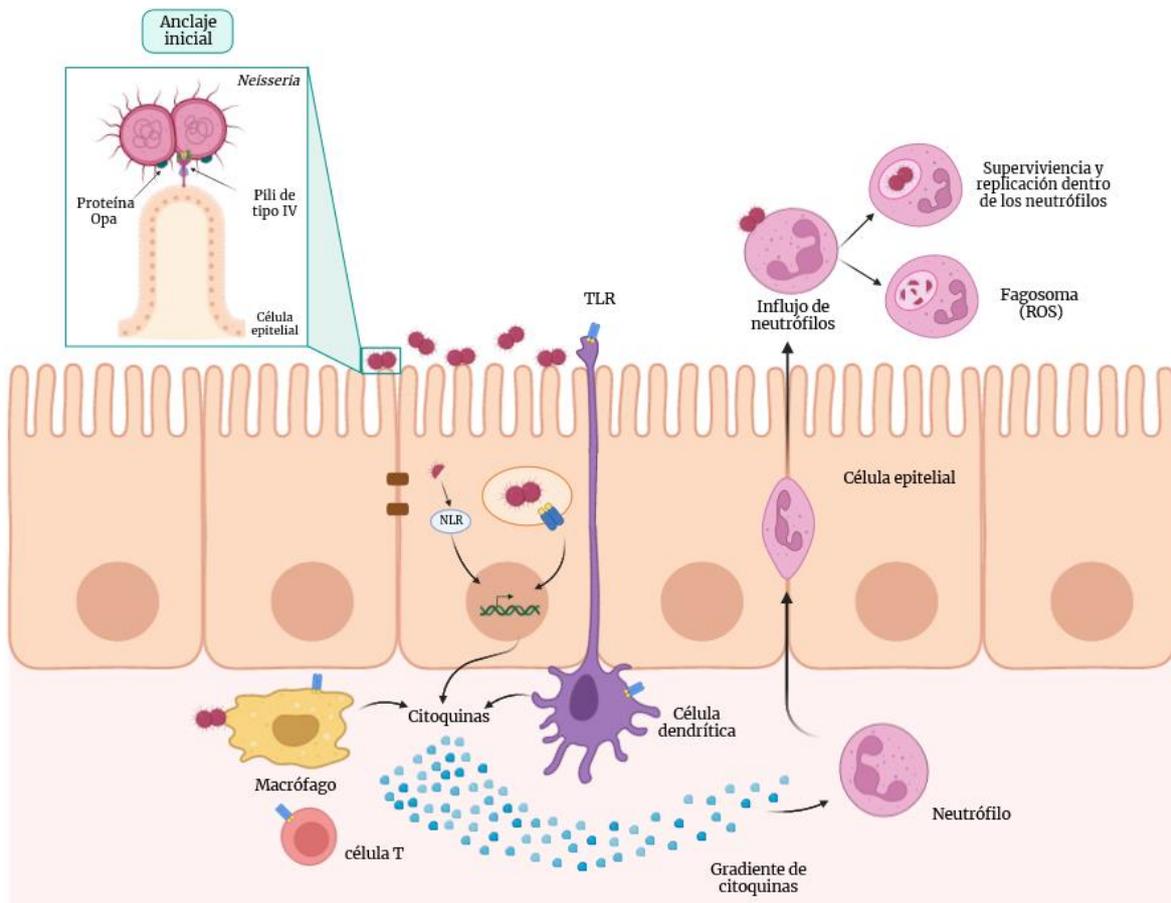


Figura 28. Primera etapa en la infección por *Neisseria*. Colonización del epitelio de las mucosas y posterior reclutamiento de neutrófilos al foco de infección. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

Los neutrófilos tienen actividades antimicrobianas tanto extracelulares como intracelulares. Las trampas extracelulares de los neutrófilos y las especies ROS (*reactive oxygen species*) combaten a los microorganismos extracelulares, mientras que las bacterias que son captadas por los neutrófilos son introducidas en un fagosoma que contiene ROS, enzimas degradativas y péptidos antimicrobianos.

Pero las neiserias patogénicas son capaces de modular y evadir estos mecanismos antimicrobianos (**Fig. 29**). Entre los factores que protegen de las actividades microbicidas de los péptidos antimicrobianos está la metaloproteinasa NG01686. Además, la bacteria tiene en

su membrana la bomba de eflujo MtrC–MtrD–MtrE, que es muy activa para sacar péptidos antimicrobianos del interior de la bacteria. Además, esta bomba de eflujo puede hacer que esa cepa sea resistente a un gran rango de diferentes antibióticos.

Por otro lado, las neiserias patógenas evitan la fagocitosis por los neutrófilos mediante diversas maneras. Así, entre otras, *N. meningitidis* produce una cápsula de polisacárido que impide la fagocitosis al aumentar la carga negativa de la superficie bacteriana. Cabe destacar la capacidad que tiene la bacteria de sintetizar o no la cápsula a lo largo de su ciclo de vida. *N. gonorrhoeae* no produce la cápsula (Fig. 29).

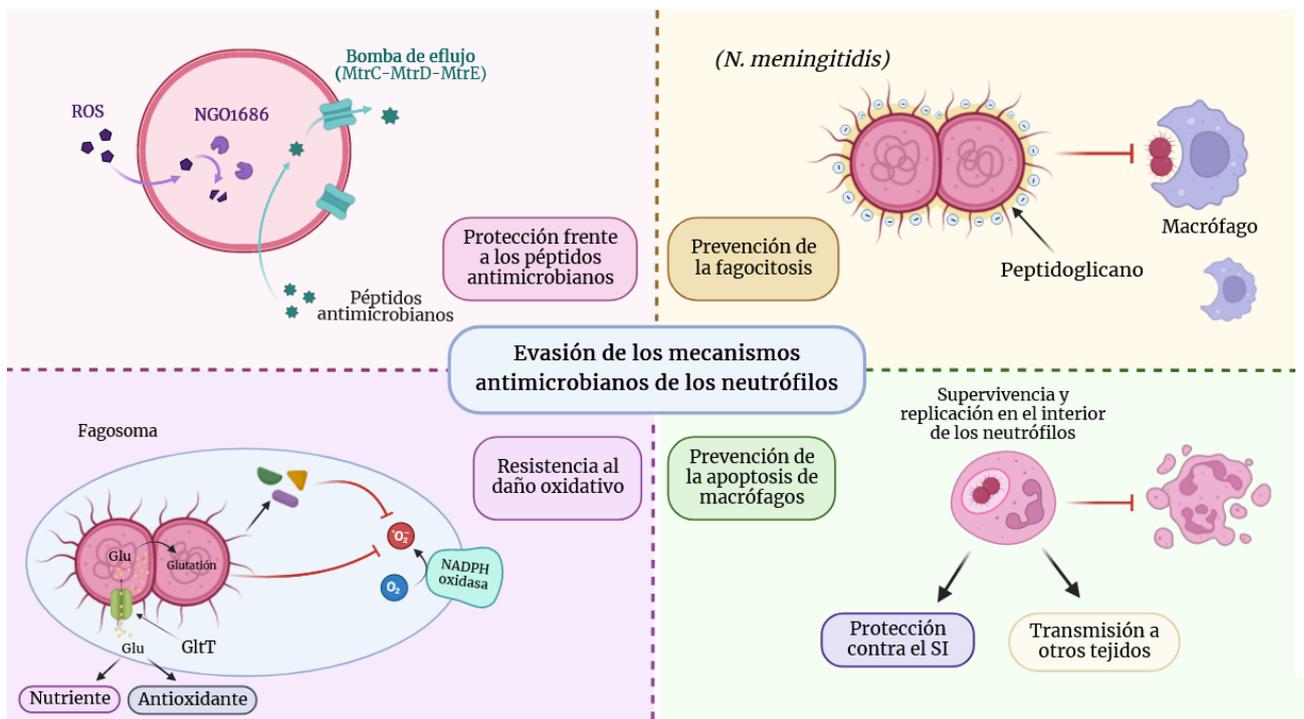


Figura 29. Evasión o defensa de *Neisseria* frente a los mecanismos antimicrobianos de los neutrófilos. Mecanismos que emplea el patógeno para aprovechar en su beneficio la respuesta inmunitaria innata y los neutrófilos. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

Aunque las neiserias patógenas pueden evitar la fagocitosis, se detectan numerosas bacterias en el interior de neutrófilos procedentes de pacientes con gonorrea o con meningitis meningocócica. De hecho, el primer nombre que se le dio a *N. meningitidis* fue *Diplococcus intracellularis*. Incluso, hay datos que implican a algunas proteínas Opa como mediadores de la fagocitosis por neutrófilos. En la **Figura 30** se muestra una imagen de microscopía donde se observan gonococos en el interior de un neutrófilo en una preparación de exudado de paciente con gonorrea.

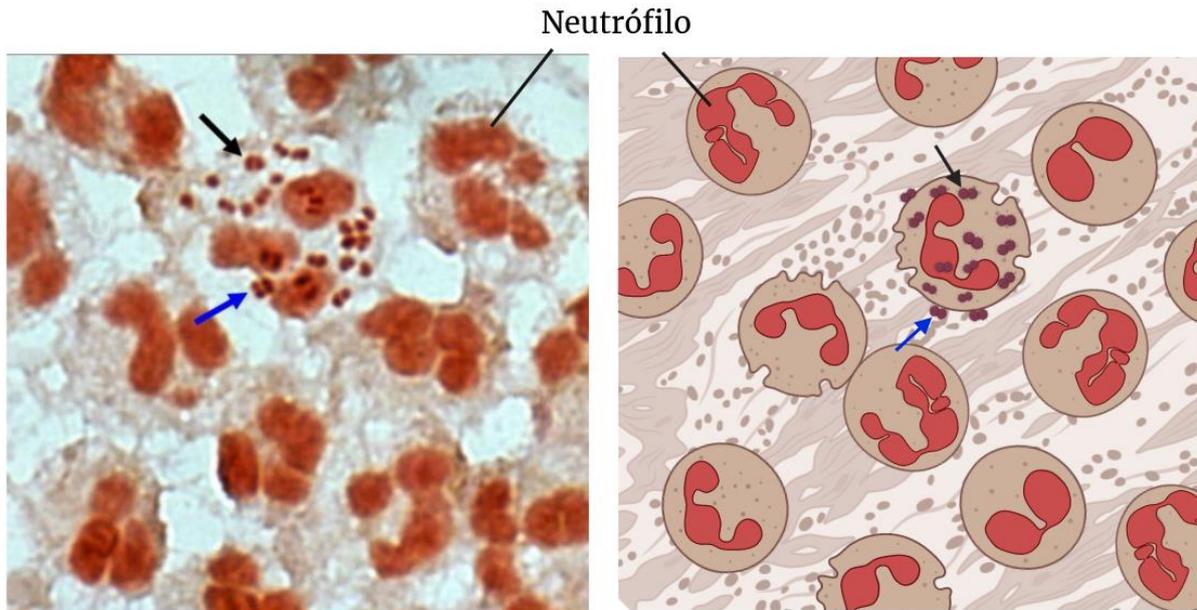


Figura 30. Imagen de microscopía de un exudado de paciente con gonorrea. Los exudados contienen neutrófilos con gonococos asociados tanto en el interior (flechas negras) como adheridos (flechas azules). (Imagen de microscopía (izquierda) – Palmer & Criss, 2018) (Imagen elaborada con BioRender (derecha) – propia)

Para muchas de las bacterias, la fagocitosis es su final. Sin embargo, una fracción de las neiserias patogénicas parece sobrevivir y replicarse incluso dentro de los neutrófilos.

Además, las bacterias impiden la apoptosis de los neutrófilos (**Fig. 29**). Los neutrófilos son células muy diferenciadas con vidas media de horas, por lo que la internalización puede considerarse una vía muerta para *Neisseria*, salvo que alargue la vida de estas células. Y, efectivamente, las neiserias patogénicas modulan los programas apoptóticos de los neutrófilos.

Por otro lado, las neiserias patogénicas son capaces de resistir al daño oxidativo promovido por los neutrófilos (**Fig. 29**). Los neutrófilos activados ensamblan la enzima multimérica NADPH oxidasa sobre la membrana del fagosoma o la membrana citoplasmática. La NADPH oxidasa genera superóxido, que de forma espontánea o catalizada se dismuta a peróxido de hidrógeno; a su vez, el peróxido de hidrógeno es utilizado por la enzima, presente en los gránulos del neutrófilo, mieloperoxidasa para generar ácido hipocloroso. Estas ROS son microbicidas debido a su habilidad para dañar lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

Para protegerse de las ROS, las neiserias patogénicas codifican varias proteínas que destoxifican a estos compuestos (catalasa, citocromo-c peroxidasa y superóxido dismutasa) o los apantallan (sistema de transporte de MnII, MntABC) o reparan los daños oxidativos en el DNA o las proteínas (MutY, RecA, sistema Uvr y MsrAB). Adicionalmente, *N. meningitidis*

contrarresta a las ROS mediante el transportador de L-glutamato (GltT) para captar L-glutamato, que es convertido en glutatión que ayuda a mantener el potencial redox citoplasmático. Estos mecanismos se ilustran en la **Figura 29**.

En resumen, las neiserias patogénicas, como resultado de una larga co-evolución con el hospedador, han establecido mecanismos para aprovechar en su beneficio a la respuesta inmunitaria innata y, en particular, a los neutrófilos. Así, los neutrófilos son reclutados en números grandes a los sitios de infección, pero la bacteria es capaz de sobrevivir y replicarse dentro o en las inmediaciones de los neutrófilos, ya que la bacteria dispone de proteínas especializadas para defenderse de los mecanismos microbicidas de los neutrófilos.

Es más, estos patógenos se asocian a los neutrófilos para ayudarse en la captación de nutrientes, para protegerse del sistema inmunitario y para la transmisión a tejidos más profundos del cuerpo e incluso a otros hospedadores.

En cuanto a la captación de nutrientes, hay que tener en cuenta que las neiserias patogénicas residen principalmente sobre las células epiteliales, donde el aporte de nutrientes procedente de las secreciones en las mucosas es bastante limitado. Como parte de la respuesta inflamatoria frente a la infección, el influjo de neutrófilos va a provocar una liberación de componentes del suero que, junto al daño en los tejidos circundantes, va a proveer de nutrientes a las bacterias extracelulares. Por otro lado, la fagocitosis de la bacteria por los neutrófilos va a permitir a las neiserias patogénicas el acceso a nutrientes intracelulares (**Fig. 31**).

Dentro de los neutrófilos, las bacterias se encuentran protegidas de la respuesta humoral. Además, los neutrófilos no funcionan como células presentadoras de antígenos, así la persistencia dentro de los neutrófilos protege a la bacteria de la respuesta inmunitaria mediada por células, por ejemplo, de los linfocitos T citotóxicos. Además, como se comenta arriba, la bacteria es capaz de alargar la vida de los neutrófilos, lo que va a contribuir a la persistencia del patógeno.

Aunque una pequeña fracción de las neiserias patogénicas atraviesa las monocapas epiteliales y endoteliales, estas bacterias no son particularmente móviles. Pues el organelo que podría estar implicado en movilidad, los pili tipo IV, en este caso, su principal función es impedir la diseminación, ya que favorece el anclaje a los tejidos del hospedador y la formación de las microcolonias bacterianas. En este sentido, los neutrófilos también parecen facilitar la diseminación de la bacteria. Por un lado, el influjo de neutrófilos y el ambiente inflamatorio produce daños locales en los tejidos, creando brechas en el epitelio por donde las bacterias pueden pasar. Por otro lado, los mismos neutrófilos pueden transportar a bacterias viables a nuevos lugares (**Fig. 31**). Este mecanismo sería responsable de las principales manifestaciones

clínicas de las infecciones por *N. meningitidis* (meningococemia y meningitis) y también podría ser responsable de la diseminación de las infecciones gonocociales asociadas con los procesos de artritis, endocarditis y dermatitis.

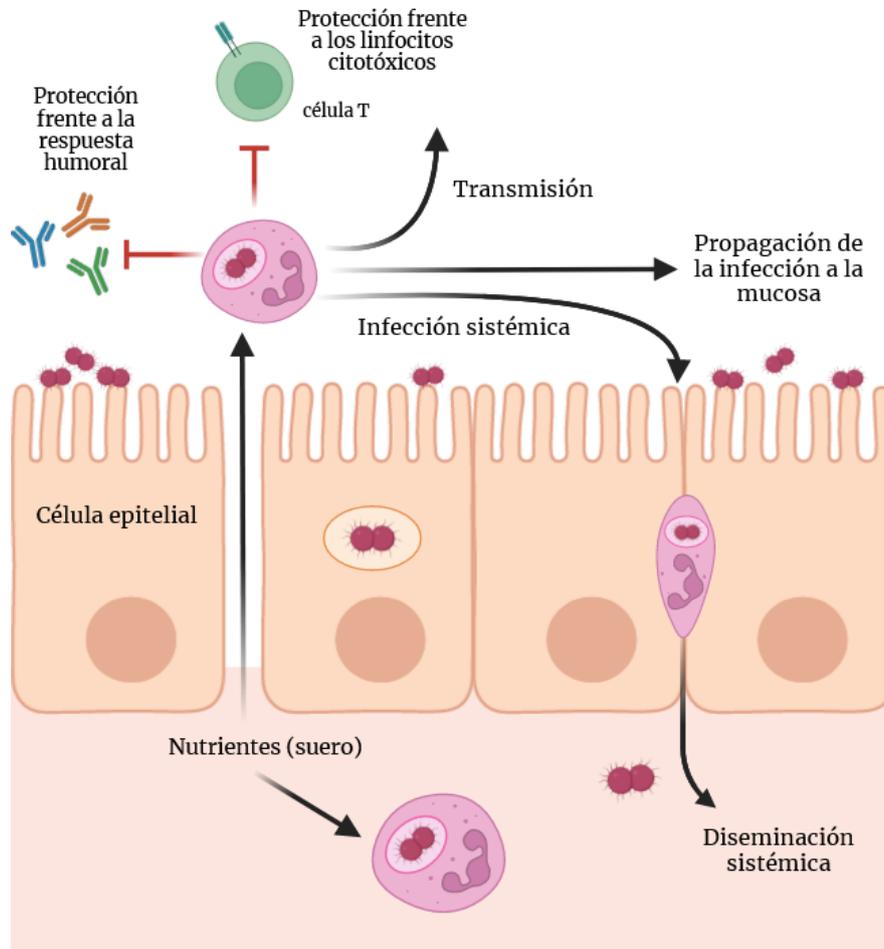


Figura 31. Beneficios del reclutamiento de neutrófilos para *Neisseria*. Persistencia del patógeno, protección frente a la RI, captación de nutrientes, diseminación y transmisión, entre otros. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

7. Evasión del sistema del complemento y susceptibilidad a la enfermedad

Un factor de virulencia importante que caracteriza a las cepas patogénicas de *N. meningitidis* es la proteína fHbp, que une al factor H del complemento de humanos (CFH, *complement factor H*). CFH es un regulador negativo del sistema del complemento. Al unir este factor sobre su superficie, la bacteria queda protegida frente a la lisis por complemento.

fHbp es expresado como un precursor que debe ser procesado proteolíticamente y luego experimenta lipidación, quedando así anclado a la cara externa de la membrana bacteriana. La afinidad de fHbp por CFH humano (hCFH) es muy alta (en el rango nanomolar). La función de CFH es proteger a las células propias del ataque por el sistema del complemento. CFH promueve la rotura de C3b por el factor I e interfiere con la convertasa C3, encargada de formar C3b.

El reclutamiento de CFH, por interacción con fHbp, a la membrana de los meningococos los protege de la fagocitosis mediada por complemento y la lisis celular. CFH es muy abundante en el suero y también se encuentra en la superficie de las mucosas. CFH tiene una estructura modular, con unas 20 repeticiones, cada una de unos 60 aminoácidos. fHbp interacciona con CFH a nivel de los módulos 6 y 7, lo que permite anclarlo a la membrana bacteriana sin interferir con su función de regulador negativo del sistema del complemento.

Cabe destacar que la afinidad de CFH por fHbp es mayor que por sus ligandos naturales sobre las células humanas. De este modo, los meningococos pueden secuestrar CFH depositado sobre las células del endotelio vascular, dejando a estas desprotegidas y posible blanco del sistema del complemento, lo que explica las lesiones vasculares que se observan en los casos de enfermedad meningocócica invasiva (**Fig. 32**).

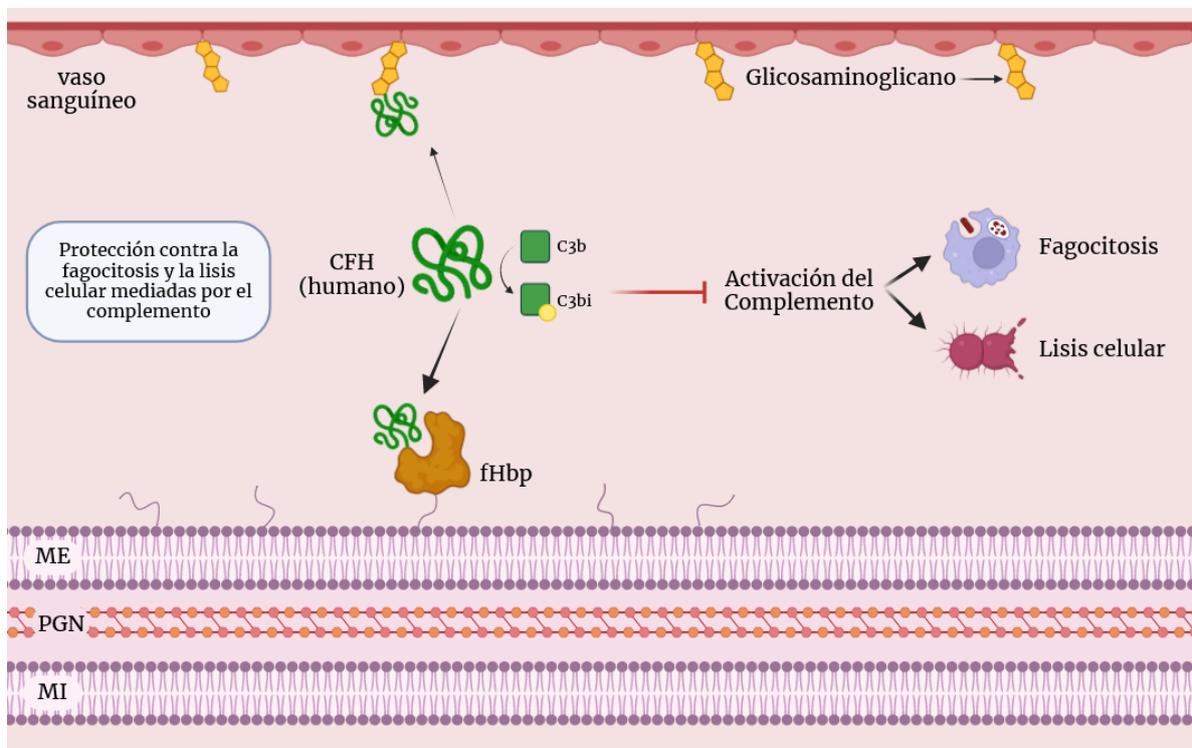


Figura 32. Evasión del Sistema del complemento. *Neisseria* capta el factor H del complemento (CFH) uniéndolo a fHbp para evitar la fagocitosis y la lisis celular. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

La especificidad de fHbp es exclusiva hacia la proteína CFH humana, y no tiene afinidad hacia las proteínas CFH homólogas de ratón o de la mayoría de los primates (**Fig. 33**). Esto puede explicar la adaptación de los meningococos a los hospedadores humanos.

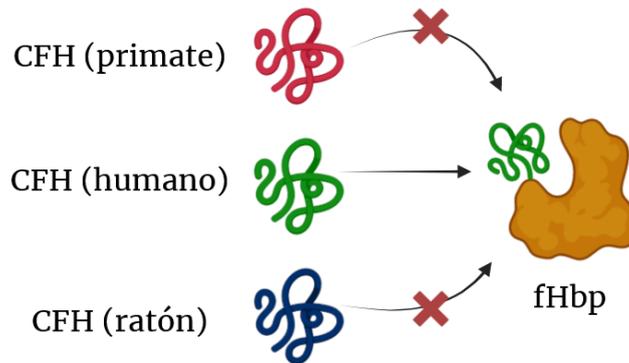


Figura 33. Especificidad de fHbp de *Neisseria* por el factor H (CFH) humano. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

Es interesante también destacar que la expresión de fHbp es inducida por estímulos ambientales ligados a la invasión de humanos por la bacteria. Así, un factor activador es la temperatura, y esto ocurre porque en la región 5' del mRNA de fHbp tiene una estructura secundaria que es termosensible. A temperatura ambiente, se forma una horquilla que impide el avance del ribosoma y, en consecuencia, la traducción del mRNA. A la temperatura del cuerpo humano, la horquilla se desestabiliza y la traducción del mRNA tiene lugar, generando altos niveles de la proteína fHbp (**Fig. 34**). La expresión de fHbp también se activa en condiciones de baja presión de oxígeno, relacionada con la sobreexpresión de la fumarato y nitrato reductasa (FNR), o en presencia de hierro, aunque los mecanismos moleculares precisos no se conocen. Además, en la **Figura 34** se observa que el gen *fhbp*, que codifica para el factor fHbp, se localiza downstream del gen *fba*, que codifica para la fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa. Estos genes pueden dar lugar a un transcrito de mRNA mono- o bi-cistrónico.

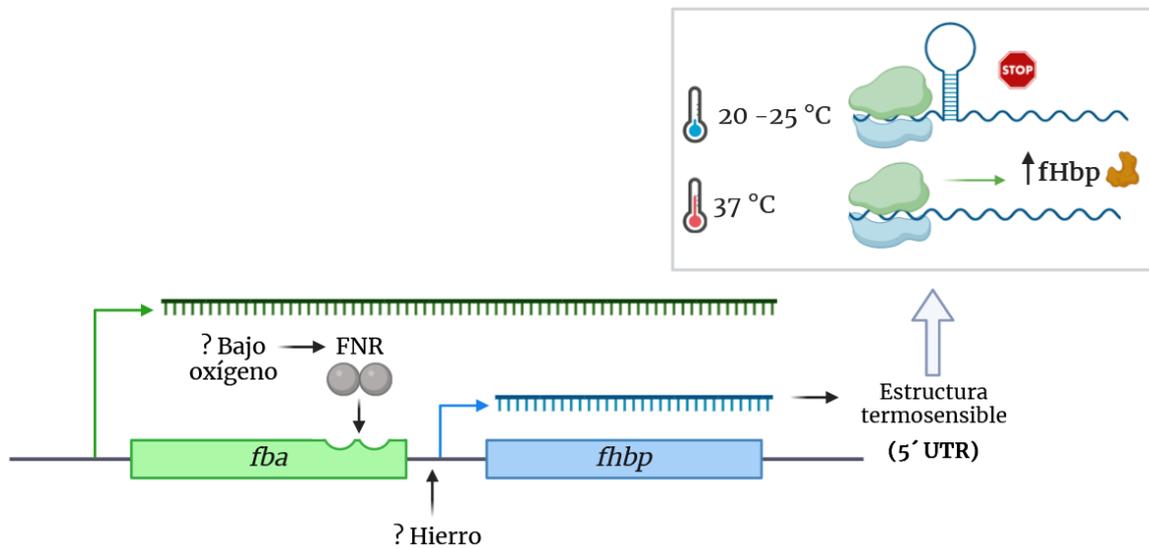


Figura 34. Activación de la expresión del factor fHbp de *Neisseria*. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

La importancia de la evasión del complemento por los meningococos se pone de manifiesto en el riesgo incrementado que tienen de sufrir enfermedad meningocócica invasiva aquellas personas con defectos hereditarios en el sistema del complemento.

Actualmente, se están desarrollando vacunas experimentales frente a los meningococos basados en el empleo de la proteína fHbp como inmunógeno, ya que la generación de anticuerpos frente a la proteína puede interferir en su capacidad de reclutar el factor CFH al tiempo que su unión puede favorecer la fagocitosis de la bacteria mediada por el receptor FcR de macrófagos (**Fig. 35**).

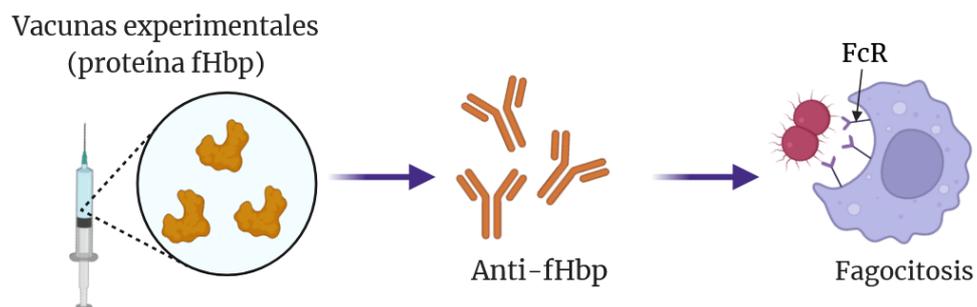


Figura 35. Vacunas experimentales que emplean fHbp como inmunógeno para generar anticuerpos. (Imagen elaborada con BioRender – propia)

Referencias

- Courtney K Ellison, Gregory B Whitfield, Yves V Brun, Type IV Pili: dynamic bacterial nanomachines, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 46, Issue 2, March 2022, fuab053, <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab053>
- Craig, L., Forest, K.T. & Maier, B. (2019) Type IV pili: dynamics, biophysics and functional consequences. *Nat Rev Microbiol* 17, 429–440. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0195-4>
- Criss, A. K. and Seifert, H. S. (2012) ‘A bacterial siren song: Intimate interactions between *Neisseria* and neutrophils’, *Nature Reviews Microbiology*. 10(3), pp. 178–190.
- Dangl, J.L. *Bacterial Pathogenesis of Plants and Animals. Molecular and Cellular Mechanisms*. (1994). Vol. 192. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-78624-2>
- Domingues, S., & Nielsen, K. M. (2017). Membrane vesicles and horizontal gene transfer in prokaryotes. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.012>
- Eriksson, L., Johannesen, T. B., Stenmark, B., Jacobsson, S., Säll, O., Hedberg, S. T., Fredlund, H., Stegger, M., & Mölling, P. (2023). Genetic variants linked to the phenotypic outcome of invasive disease and carriage of *Neisseria meningitidis*. *Microbial Genomics*, 9(10), 9. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001124>
- Hill, D. J., Griffiths, N. J., Borodina, E., & Virji, M. (2010). Cellular and molecular biology of *Neisseria meningitidis* colonization and invasive disease. *Clinical science (London, England: 1979)*, 118(9), 547–564. <https://doi.org/10.1042/CS20090513>
- Jafri, R. Z., Ali, A., Messonnier, N. E., Tevi-Benissan, C., Durrheim, D., Eskola, J., Fermon, F., Klugman, K. P., Ramsay, M., Sow, S., Zhujun, S., Bhutta, Z. A., & Abramson, J. (2013). Global epidemiology of invasive meningococcal disease. *Population health metrics*, 11(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1478-7954-11-17>
- Johnson, M. B., & Criss, A. K. (2011). Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* to neutrophils. *Frontiers in microbiology*, 2, 77. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00077>
- Jones, R. A., Jerse, A. E., & Tang, C. M. (2023). Gonococcal PorB: a multifaceted modulator of host immune responses. *Trends in microbiology*, S0966-842X(23)00291-3. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.10.002>
- Liu, G., Tang, C. M., & Exley, R. M. (2015). Non-pathogenic *Neisseria*: members of an abundant, multi-habitat, diverse genus. *Microbiology (Reading, England)*, 161(7), 1297–1312. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000086>
- Obergfell, K. P., & Seifert, H. S. (2015). Mobile DNA in the pathogenic *Neisseria*. *Microbiology Spectrum*, 3(1), 14. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mdna3-0015-2014>
- Omeershoffudin, U. N. M., & Kumar, S. (2023). Emerging threat of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: pathogenesis, treatment challenges, and potential for vaccine development. *Archives of microbiology*, 205(10), 330. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03663-0>
- Palmer, A., & Criss, A. K. (2018). Gonococcal defenses against antimicrobial activities of neutrophils. *Trends in Microbiology*, 26(12), 1022–1034. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.07.003>
- Phillips, Z. N., Tram, G., Seib, K. L., & Attack, J. M. (2019). Phase-variable bacterial loci: how bacteria gamble to maximise fitness in changing environments. *Biochemical Society transactions*, 47(4), 1131–1141. <https://doi.org/10.1042/BST20180633>
- Quillin, S. J., & Seifert, H. S. (2018). *Neisseria gonorrhoeae* host adaptation and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, 16(4), 226–240.

- Rotman, E., & Seifert, H. S. (2014). The genetics of *Neisseria* species. *Annual review of genetics*, 48, 405–431. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120213-092007>
- Sadarangani, M., & Pollard, A. J. (2010). Serogroup B meningococcal vaccines-an unfinished story. *The Lancet. Infectious diseases*, 10(2), 112–124. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70324-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70324-X)
- Seib, K. L., Jen, F. E., Scott, A. L., Tan, A., & Jennings, M. P. (2017). Phase variation of DNA methyltransferases and the regulation of virulence and immune evasion in the pathogenic *Neisseria*. *Pathogens and disease*, 75(6), 10.1093/femspd/ftx080. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx080>
- Tan, A., Hill, D. M., Harrison, O. B., Srikhanta, Y. N., Jennings, M. P., Maiden, M. C., & Seib, K. L. (2016). Distribution of the type III DNA methyltransferases modA, modB and modD among *Neisseria meningitidis* genotypes: implications for gene regulation and virulence. *Scientific reports*, 6, 21015. <https://doi.org/10.1038/srep21015>
- Teglia, O. (Ed.). (2016). *Neisseria gonorrhoeae en la era de la multiresistencia*. REVISTA MÉDICA DE ROSARIO 17. http://www.circulomedicorosario.org/Upload/Directos/Revista/76356fTegliaNeisseria_gonorrhoea_y_multirresistencia.pdf
- Unemo, M., Seifert, H. S., Hook, E. W., 3rd, Hawkes, S., Ndowa, F., & Dillon, J. R. (2019). Gonorrhoea. *Nature reviews. Disease primers*, 5(1), 79. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0128-6>
- Virji M. (2009) Pathogenic neisseriae: surface modulation, pathogenesis and infection control. *Nat Rev Microbiol*;7(4):274-286.
- Weyand N. J. (2017). *Neisseria* models of infection and persistence in the upper respiratory tract. *Pathogens and disease*, 75(3), 2, 10.1093/femspd/ftx031. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx031>
- Yee, W.-X., Barnes, G., Lavender, H., & Tang, C. M. (2023). Meningococcal factor H-binding protein: implications for disease susceptibility, virulence, and vaccines. *Trends in Microbiology*, 31(8), 805–815. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.02.011>
- Zöllner, R., Oldewurtel, E. R., Kouzel, N., & Maier, B. (2017). Phase and antigenic variation govern competition dynamics through positioning in bacterial colonies. *Scientific Reports*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12472-7>

Sitios en Internet

- Scientific image and illustration software. (s/f). <https://www.biorender.com/>