



FACULTAD DE
CIENCIAS

Microbiología clínica

Grado en Bioquímica

Departamento de Biología Molecular



U. A. M. © 2015



Tema 11: *Neisseria*

Claudia Gonzalo

Raquel Luna

Diana Vega

Andrea Yerpes

Índice

1. Introducción	3
2. Factores de virulencia y colonización	8
3. Transferencia horizontal de genes	10
4. Mecanismos de variación genética en <i>Neisseria</i>	13
4.1. Recombinación homóloga intergénica	14
4.2. Mecanismos on/off	15
5. Relevancia funcional de la variación genética	18
5.1. Los pili	18
5.2. Tropismos celulares de las proteínas opaque (Opa)	19
5.3. Evasión de la respuesta inmunitaria y variación adaptativa.....	19
6. Papel de los neutrófilos en la patogénesis de <i>Neisseria</i>	21
Referencias	28

1. Introducción.

El género *Neisseria* está constituido por **cocos gramnegativos aerobios** con tendencia a agruparse por parejas en forma de grano de café (Fig. 1). Este género contiene muchas especies (19), 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. Un estudio realizado en la universidad de Sheffield ha demostrado que aquellas personas colonizadas por *N. lactamica* presentan anticuerpos específicos en las mucosas y en el suero, que además producen una reacción cruzada con un amplio rango de serotipos de *N. meningitidis*. No obstante, los anticuerpos que se generan en esta respuesta contra *N. meningitidis* promueven el proceso de opsonización y fagocitosis pero no tienen actividad microbicida en el suero. Los resultados de este estudio apoyan la hipótesis de que la colonización de *N. lactamica* contribuye a la protección ante el meningococo y la enfermedad que produce. 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 (Fig. 2). En cambio, *Neisseria lactamica*, *Neisseria sicca* y *Neisseria mucosa* son especies no patogénicas.

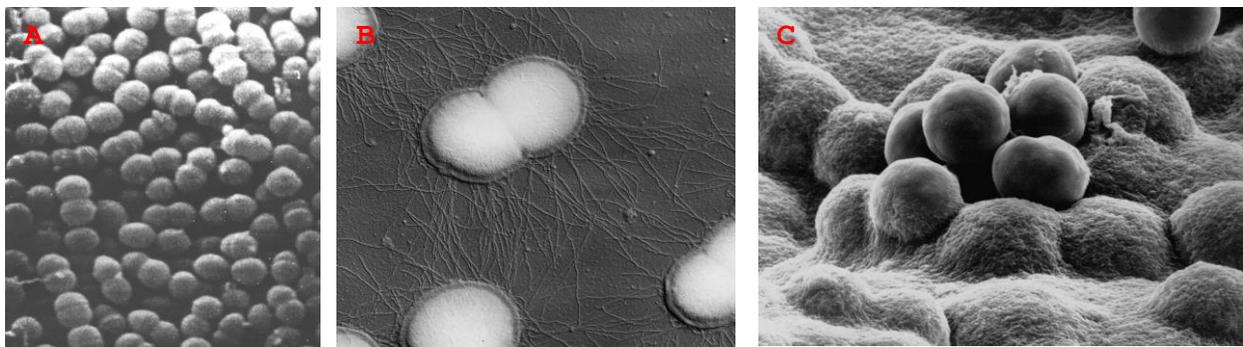


Figura 1. Se muestra la morfología típica de grano de café que forman las bacterias del género *Neisseria*. La primera imagen corresponde a la especie *N. gonorrhoeae*. En esta imagen se aprecia que la bacteria dispone de unas estructuras filamentosas denominadas pili (en este caso, de tipo IV) que controlan movimiento, adherencia, escape inmune y transformación natural de bacterias patógenas Gram negativas. La segunda imagen corresponde a la especie *N. meningitidis*. *Craig et al. (2006)* y *Colección Scanning Electron Microscopy Images de Central Microscopy Research Facility of University of Iowa*.

a *N. meningitidis*

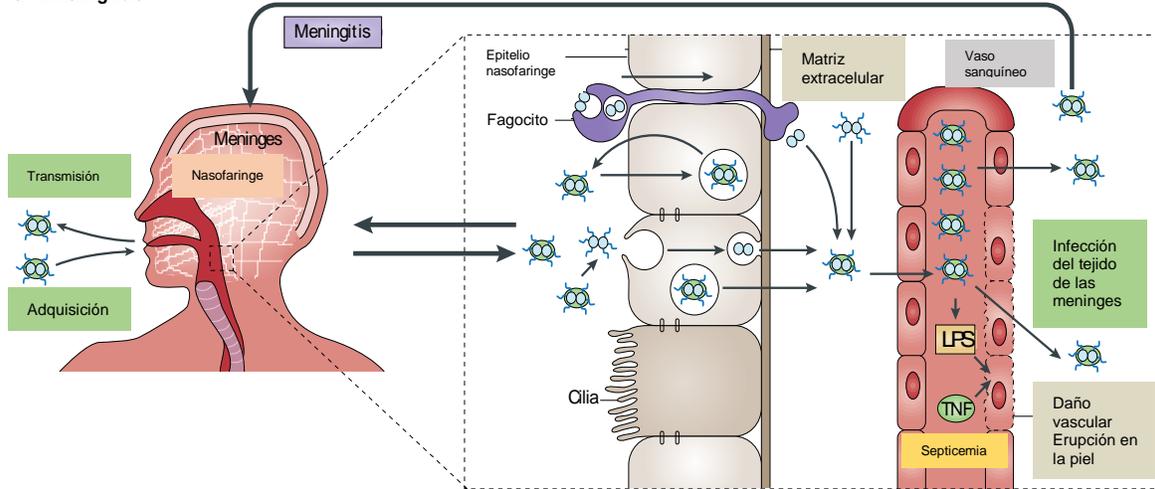


Figura 2a. Etapas en la patogénesis de *N. meningitidis* y *N.gonorrhoeae*. *Neisseria meningitidis* puede ser adquirida por la inhalación de gotas respiratorias. La bacteria establece un contacto íntimo con las células no ciliadas de la mucosa epitelial del tracto respiratorio superior, donde puede entrar antes de volver a la zona apical de la célula para liberarse y transmitirse a un nuevo hospedador. En individuos adultos sanos lo común es que se desarrolle una infección asintomática en la que la bacteria entra en el cuerpo atravesando la barrera epitelial y es eliminada por el sistema inmunitario. Además del proceso de transcitosi, *N. meningitidis* puede cruzar la barrera epitelial o directamente aprovechando la brecha que se produce en la monocapa epitelial o dentro de los fagocitos, como Caballo de Troya. Sin embargo, en individuos susceptibles, una vez que la bacteria accede al torrente sanguíneo puede sobrevivir, multiplicándose rápidamente y diseminándose por el organismo, llegando al cerebro. Esta bacteria tiene la capacidad de atravesar el endotelio del plexo coroideo, infectando las meninges y el fluido cerebroespinal. *Modificada de Virji (2009)*

b *N. gonorrhoeae*

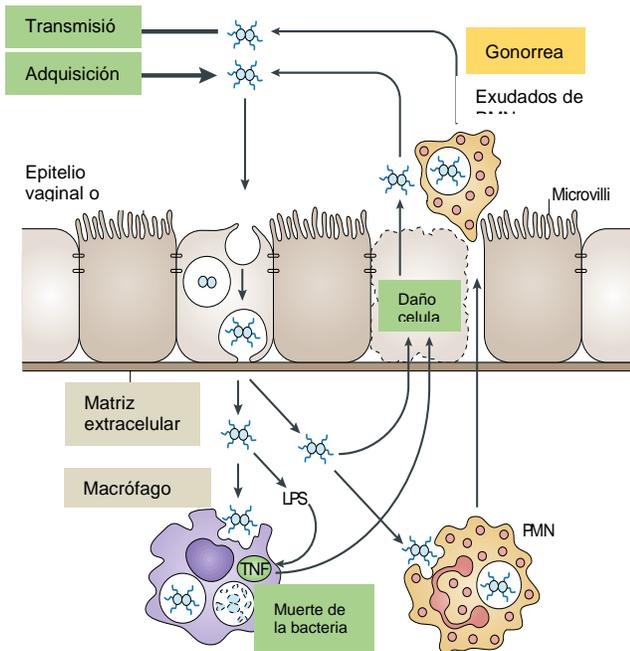


Figura 2b. Etapas en la patogénesis de *N. meningitidis* y *N.gonorrhoeae*. *Neisseria gonorrhoeae* se adquiere mediante el contacto sexual y establece la infección en el tracto urogenital, interaccionando con las células no ciliadas del epitelio; esto supone la invasión celular. Aunque hay diferentes mecanismos moleculares implicados en el establecimiento del gonococo en mujeres y hombres, la infección suele estar asociada a inflamación y al influjo de leucocitos polimorfonucleares (PMN). Sin embargo, la infección en el tracto genital inferior de las mujeres suele ser asintomática. *N.gonorrhoeae* es fagocitada por los PMN y, posteriormente, es secretada en los exudados de los mismos. Tanto el factor de necrosis tumoral (TNF) de los fagocitos como los productos gonococales, como el peptidoglicano y el lipopolisacárido, también producen toxicidad en las células ciliadas epiteliales de la superficie de las mucosas. *Modificada de Virji (2009)*

La primera vez que se describió una enfermedad que recuerda a la enfermedad meningocócica fue en el siglo XVI. Esta enfermedad fue descrita por Vieusseux en 1805 durante un brote que causó treinta y tres muertes en las cercanías de [Ginebra, Suiza](#). En 1884, Marchiafava y Celli describieron por primera vez la bacteria como micrococos ovalados intracelulares en una muestra de [líquido cefalorraquídeo](#). Finalmente, en 1887 Anton Weichselbaum la aisló del líquido cefalorraquídeo obtenido de seis de ocho pacientes con meningitis bacteriana y la llamó *Diplococcus intracellularis meningitidis*.

N. meningitidis es adquirido por la inhalación de gotas respiratorias que lo contienen. Es susceptible a cambios de temperatura y a la desecación y, por lo tanto, la infección no se transmite por objetos inanimados contaminados por el microorganismo. ¹ 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.

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”. 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. En el torrente sanguíneo, la bacteria puede causar **meningococia** (una bactericemia 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.

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 infección por *N. meningitidis* es relativamente baja, si tenemos en cuenta el gran

porcentaje de individuos que portan la bacteria (alrededor de 500 millones de personas). Así, en Europa se producen de 1-5 casos de infección 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, como la pérdida de audición o discapacidad mental. Además también puede producirse la pérdida de alguna extremidad.

La meningitis bacteriana continúa siendo uno de los grandes problemas de salud pública mundial. *N. meningitidis* es la causa más común de meningitis bacteriana en el mundo occidental. No obstante, la infección afecta tanto a países desarrollados como subdesarrollados, y se presenta en formas endémicas y epidémicas.

La persistencia de *N. meningitidis* se debe al gran porcentaje de portadores y a la dinámica transmisión de la bacteria. Los factores de transmisibilidad identificados han sido el tabaquismo activo o pasivo, la presencia de infecciones virales del tracto respiratorio superior, épocas de sequía y el hacinamiento.

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. Si la bacteria matara a todas las personas infectadas, el microorganismo cometería su propio suicidio, ya que no tiene otros huéspedes o reservorios en la naturaleza. El hombre constituye su única posibilidad de sobrevivir y propagarse. Como se mencionó antes, el 10% de la población europea presenta meningococos como especies comensales, pero sólo en contados casos se produce enfermedad.

El control de la enfermedad meningocócica se logra con **antibióticos adecuados** (penicilina, ceftriaxona o cloranfenicol), la quimioprofilaxis de contactos cercanos y la vigilancia clínica de éstos.

Existen referencias en la Biblia y otros escritos antiguos a las infecciones causadas por *N. gonorrhoeae*. Hay escritos chinos que datan de hace más de 2 500 años que describen una infección en la uretra tratable con esencia de soja. Una enfermedad de transmisión sexual, que podía haber sido la gonorrea, fue la que la Biblia describe que afectó a Sara, la mujer de Abraham. Hipócrates (460-355 a.C.)

hizo una de las primeras descripciones científicas de la infección gonocócica: disecó la uretra de los hombres que estaban infectados por este agente y notó la existencia de modificaciones en el tejido epitelial, a la vez que una secreción. Describió el hallazgo de la estenosis uretral que con tanta frecuencia acompaña al problema. Finalmente, fue Galeno, en 130 d.C. el que acuñó el término gonorrea.

El agente causante de la gonorrea fue descrito en 1879 por Neisser a partir de exudados de pacientes con uretritis y oftalmia neonatal. Demostró que cuando inoculaba cultivos del gonococo en la uretra de hombres sanos, éstos desarrollaban la enfermedad. Realizó cultivos con la bacteria. Cinco años después, [Hans Gram](#), bacteriólogo [danés](#), permitió la identificación del gonococo mediante el uso de las tinciones de Gram. En 1885, [Ernest Bum](#) aisló el microorganismo en un medio artificial. En [1959](#), se introduce el test de anticuerpos fluorescentes para la identificación de esta especie y en [1964](#), Thayer y Martin desarrollan un medio selectivo con antibióticos, exclusivo para el crecimiento de *N. gonorrhoeae*, que es el que se emplea actualmente. 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 antibióticos.

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.

La bacteria es capaz de invadir a las células epidérmicas no ciliadas y alcanzar la lámina basal. La colonización del epitelio de la uretra masculina depende de la presencia de **transferrina o lactoferrina**. La interacción del **lipo-oligosacárido (LOS)** con el **receptor de asialoglicoproteína (ASPG-R)** presente en las células epiteliales de la uretra permite la invasión y la producción de citoquinas. La liberación excesiva de citoquinas es la causante de la naturaleza de los síntomas característicos de la gonorrea, debido a un influjo importante de PMN, que contribuye a la liberación de las citoquinas inflamatorias. La interacción entre el gonococo y los PMN está mediada por dos amplias familias de proteínas: las proteínas **Opa gonococales** y las **proteínas CEACAM** (*Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule*) del hospedador. La interacción específica entre las dos proteínas es lo que determina la reacción de la célula hospedadora que puede suponer la muerte o la supervivencia de la bacteria. Durante la relación que se establece entre el gonococo y el neutrófilo, el gonococo recibe residuos de ácido siálico en las moléculas de LOS que tendrán que ser retirados antes de que pueda invadir de nuevo otras células epiteliales. Existen **sialidasas** en el

esperma humano, en los PMNs y en los macrófagos. De esta manera, *N.gonorrhoeae* se aprovecha de estas células para lograr la progresión de la enfermedad.

Muchos de los **PMNs** van a ser secretados en los exudados típicos que acompañan a la infección del gonococo. Estudios *in vitro* de los exudados de PMNs de pacientes han demostrado que al menos algunas bacterias sobreviven a la acción citotóxica de los PMNs. 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. En el tracto genital inferior femenino, la presencia o ausencia del ácido siálico en la superficie del gonococo no influye en la colonización por la bacteria, aunque las sialidasas presentes en el tracto genital inferior femenino pueden facilitar la transmisión al epitelio uretral masculino. La ascensión al tracto genital superior femenino está mediada tanto por factores de la bacteria como de las células hospedadoras. En el tracto genital superior femenino, la interacción está mediada por el **receptor de lutropina LHR** presente en el endometrio y en las trompas de Falopio. Aunque es algo especulativo, la interacción entre el gonococo y LHR que se produce en las membranas decidua y placentaria puede provocar complicaciones de la patología que, en parte, contribuyen al incremento del riesgo de aborto asociado a la infección por *N. gonorrhoeae*.

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 neisserial y gonococal se caracterizan por inducir fuertes respuestas inflamatorias a la infección.

2. Factores de virulencia y colonización.

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. Con la excepción del polisacárido del serogrupo A, compuesto por unidades repetidas de α -N-acetil-manosamina-1-fosfato, el resto de serotipos tienen su cápsula de polisacáridos compuesta por derivados del ácido N-acetil-neuramínico (ácido siálico). 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. 3). Estas adhesinas parecen ser las responsables de especificidad de hospedador, y de tejido.

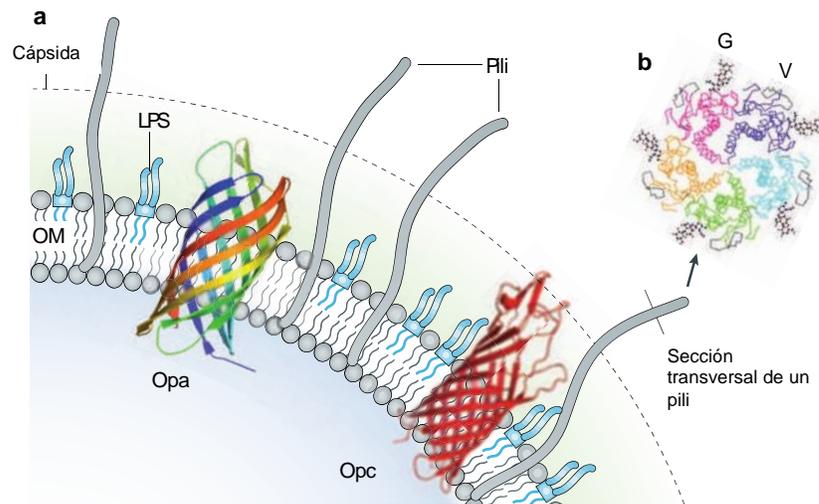


Figura 3. Componentes prominentes de la membrana externa de *N. meningitidis* que influyen en la interacción entre la bacteria y las células hospedadoras. a) Los pili atraviesan la cápsula y son las adhesinas más prominentes de la bacteria encapsulada. Además, las adhesinas integrales de la membrana externa, Opa y Opc, median interacciones con receptores específicos de las células hospedadoras en los fenotipos apropiados. El lipopolisacárido puede interferir en las funciones de adhesión de las proteínas de membrana externa, aunque también puede contribuir a las interacciones celulares ya que interacciona con varios receptores. La membrana externa de *N. gonorrhoeae* se diferencia en dos aspectos importantes: los gonococos no están encapsulados y la expresión de Opc es inexistente a nivel de proteína. b) Sección transversal de una fibra de pili que muestra que los dominios variables (V) y los glicanos, al igual que otras sustituciones (no mostrado) se localizan en el exterior de la estructura, mientras que los dominios constantes están secuestrados en el interior, protegidos del ambiente del hospedador. El modelo estructural mostrado para Opa está representado por la proteína NspA (proteína de superficie A de *Neisseria*), la cual, al igual que Opa, presenta una estructura de barril β formado por 8 hélices. *Modificada de Virji (2009)*

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**.

3. Transferencia horizontal de genes.

Parece existir 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 *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* (Figura 4) 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.

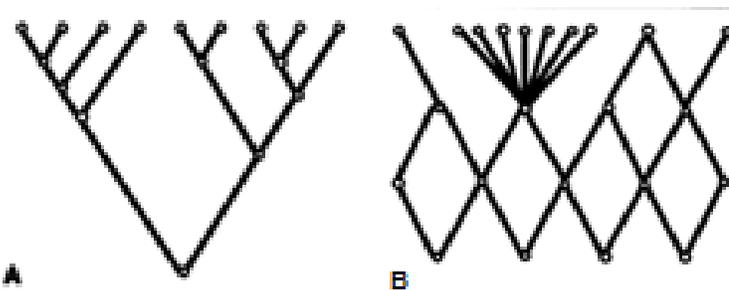


Figura 4. Representación de la estructura de las poblaciones. La estructura de la población A es clonal en todos los niveles, por lo que el dendograma es un árbol evolutivo: no ocurre recombinação, ni entre individuos de la misma rama ni de diferentes ramas en el árbol. En la población B, hay recombinação frecuente entre todos los miembros de la población, y la estructura tipo red. No obstante, ocasionalmente surge un individuo muy exitoso y su frecuencia aumenta rápidamente, produciendo un clon. *M. Smith et al. (1993)*

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.

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.

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. Esta agrupación génica se encuentra sólo en gonococos pero no en meningococos ni en neiserias comensales, lo que sugiere que esta ha sido una adquisición reciente de los gonococos, posterior a la especiación en *Neisseria*.

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'). Estas secuencias se encuentran con frecuencia en las regiones de apareamiento de los terminadores transcripcionales. 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.

En la **figura 5** 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 *N. gonorrhoeae*, además, la donación de DNA puede ser mediada por el sistema de secreción tipo IV. Poco se sabe sobre el DNA secretado por este sistema: cómo es producido y si este DNA es de cadena doble o sencilla. 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.

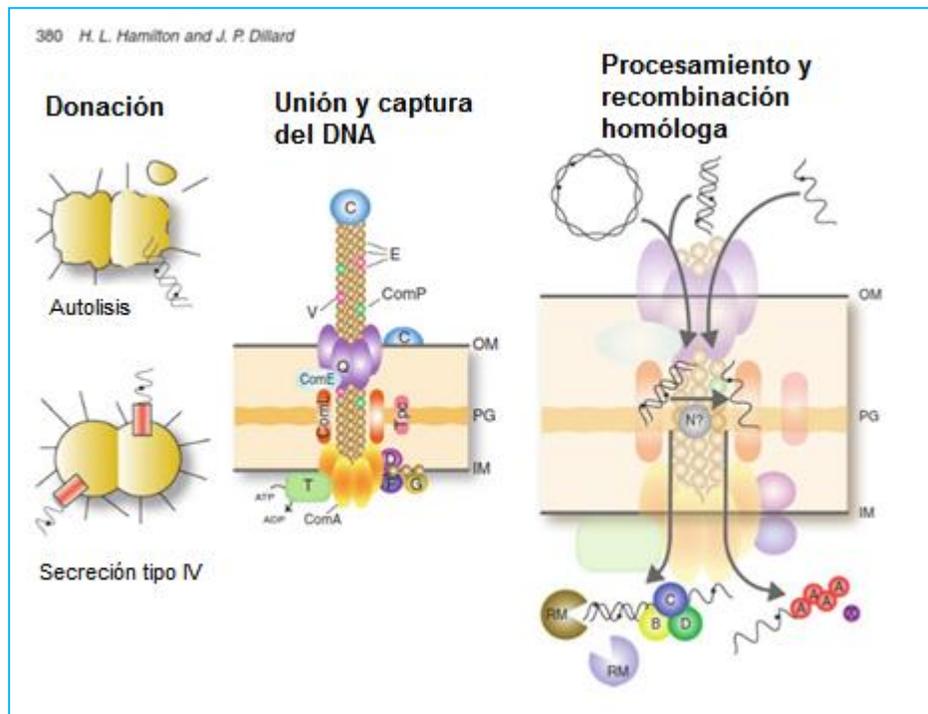


Fig. 5. Transformación de gonococos ocurre en 4 pasos: donación de DNA, unión y captura del DNA, procesamiento y recombinación homóloga. La secreción de DNA tipo IV y la autólisis de gonococo sirven como los 2 mecanismos de donación de DNA para la transformación natural. La unión y captura requiere de muchas proteínas del pili, tales como ComP, ComL, ComE, ComA y Tpc. Durante la captura, el DNA plasmídico es procesado a DNA lineal de doble cadena, y al menos parte de este DNA es convertido a DNA de cadena sencilla. Una vez en el citoplasma, el DNA de cadena doble es procesado por enzimas de restricción, y también por la nucleasa RecBCD. El DNA de cadena simple es unido por RecA citoplasmática (A), que media la recombinación homóloga en el cromosoma del gonococo. Basada en *Hamilton & Dillard (2006)*.

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. 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.

Finalmente, el ssDNA se une a **RecA**, que va a mediar la **recombinación homóloga** con secuencias cromosomales.

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 variación genética en *Neisseria*.

La variación 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**.

4.1. Recombinación homóloga intergénica.

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.

Las copias pilS constituyen el repertorio de secuencias variantes que es empleado para la recombinación con pilE para generar moléculas variantes de pilina (Figura 6).

La **recombinación** de los genes *pil* puede ocurrir por **dos vías** diferentes:

- Recombinación recíproca.
- 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.

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} suceso/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.

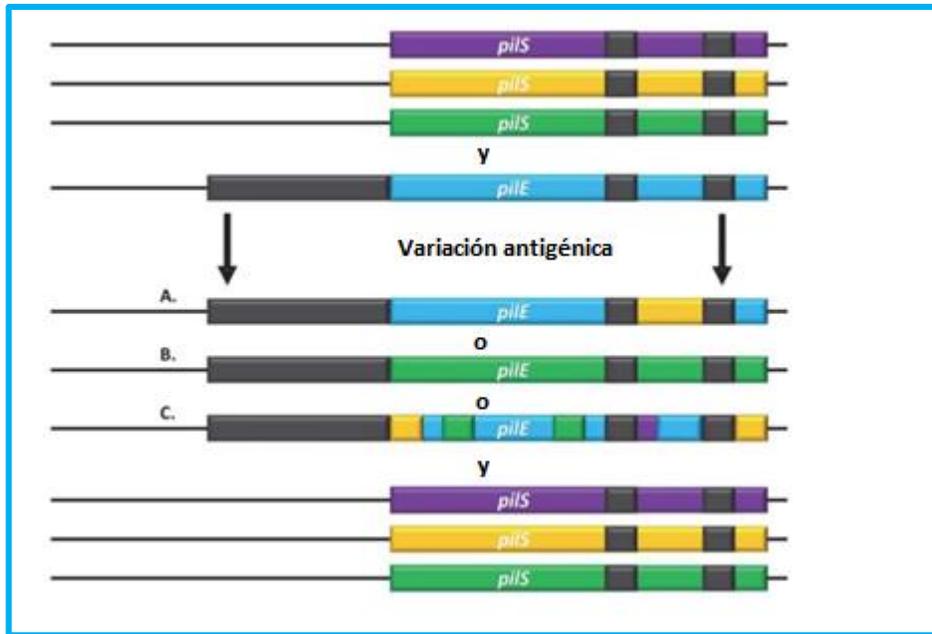


Figura 6. Descripción molecular de la variación antigénica. Los loci *pilE* y *pilS* tienen regiones de microhomología de secuencia (gris) y de variabilidad (en color). Las secuencias de un loci *pilS* no expresado es transferida al locus de expresión con la secuencia *pilE* sin cambiar. Puede ocurrir la recombinación (A) en solo una sección del gen, resultando un híbrido *pilS- pilE*; (B) sobre todo el gen *pilS* resultando en una región variable completamente nueva de *pilE*; o (C) múltiples veces con diferentes copias silentes resultando en una nueva secuencia *pilE* conteniendo información de diferentes copias silentes en las regiones variables. Obergfell KP, Seifert HS. 2014.

4.2. Mecanismos on/off

La **variación de fase** (phase variation) es el cambio reversible entre estados de expresión de genes definidos, normalmente un cambio entre un estado expresado (ON) y no expresado (OFF).

La variación de fase ocurre en un ratio entre 10^{-2} y 10^{-5} /célula/generación y hay una correlación entre un incremento de frecuencia de variación de fase y un alto número de repeticiones. El genoma de *Neisseria* contiene un gran número de genes con variación de fase; se estima que hay más de 100 (Ver tabla 1)

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.



Gen	Función	Repetición	Localización repetición	Organismo
pglB	Glicosilación pili	Poli-A	Región codificante 5'	Nm
pglG, H	Glicosilación pili	Poli-C	Región codificante 5'	Nm
pglA/pgtA	Glicosilación pili	Poli-G	Región codificante 5'	Nm/Ng
lgtA, C, D, G	Biosíntesis lipooligosacárido	Poli-G	Región codificante 5'	Ng, Nm
pilC	Asociado al pili	Poli-G	Región codificante 5'	Ng, Nm
siaA	Polisialilasa cápsula	Poli-C	Región codificante 5'	Nm
porA	Porina	Poli-G	Promotor	Nm
Opc	Proteína membrana externa	Poli-C	Promotor	Nm
fetA	Receptor sideróforo	Poli-C	Promotor	Ng
nadA	Adhesina/invasina	TAAA	Unión al promotor río arriba	Nm
Opa	Proteína de opacidad	CTCTT	Región codificante 5'	Ng, Nm, NI
lip	Lipoproteína	15 pb	Región codificante 5'	Ng, Nm
pilQ	Secretina	24 pb	Región codificante 5'	Ng, Nm
dcaC	División pared celular	108 pb	Región codificante	Ng, Nm, NI
frpAC	Proteína de la familia de regulación del hierro RTX	27 pb	Región codificante 3'	Nm
modA	Metilasa DNA tipo III	AGCC	Región codificante 5'	Ng, Nm
modB	Metilasa DNA tipo III	CCCAA	Región codificante 5'	Ng, Nm

*Abreviatura: Ng, Neisseria gonorrhoeae; NI, Neisseria lactamica; Nm, Neisseria meningitidis. *Rotman & Seifert (2014)*

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. 7*).

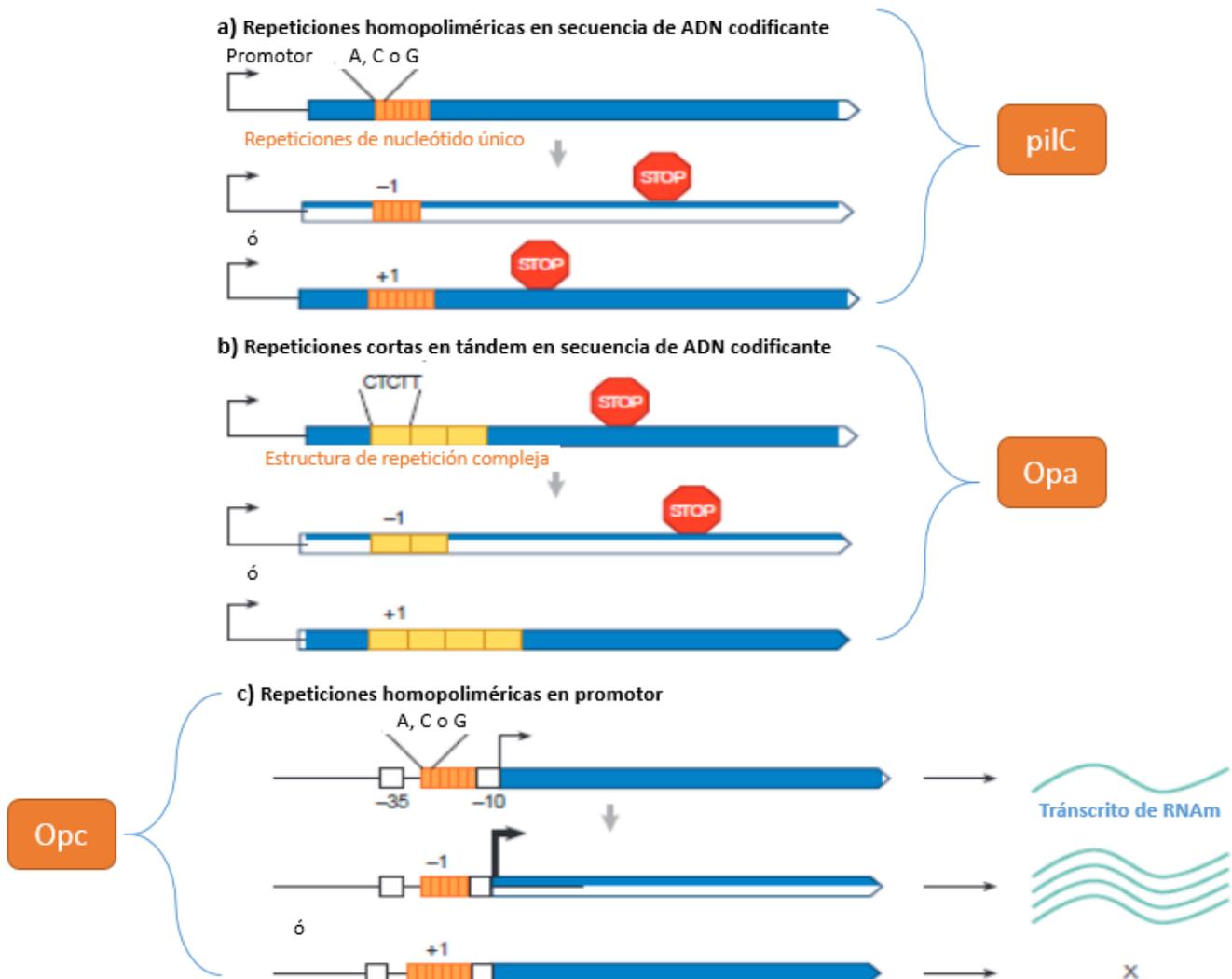


Figura 7. Tipos de variación de fase. La flecha azul representa la región codificante del gen en la dirección de la traducción. La flecha negra representa el promotor. Los rectángulos naranjas representan una única repetición de nucleótidos y los amarillos una estructura repetida más compleja. Las líneas curvas azules representan el transcrito de RNA mensajero.

(a) **Repeticiones homopoliméricas:** la adición o deleción de un único nucleótido cambia el marco de lectura del gen. En este ejemplo un gen normalmente traducido cambia de fase de lectura y en consecuencia se obtiene un producto que se trunca prematuramente. (b) **Pequeñas repeticiones en tándem:** la adición o deleción de un tramo corto de DNA cambia la fase de lectura del gen si el número de nucleótidos no es un múltiplo de tres. En este ejemplo, el gen está fuera de fase. La deleción de una repetición pentanucleotídica cambia el marco de lectura pero no al correcto, mientras que la adición de la repetición restablece el marco apropiado. (c) **Repeticiones homopoliméricas en la región promotora** alteran la distancia entre los sitios de reconocimiento de la polimerasa -10 y -35, afectando al grado de unión de la misma. En este ejemplo, cambios en la longitud del promotor alteran los niveles de transcripción. La adición de un nucleótido provoca una transcripción más eficiente, mientras que si se elimina un nucleótido se produce una pérdida de transcripción, representado con una X en la figura.

Abreviatura: CDS, secuencia codificante.

Rotman & Seifert (2014)

En el caso de los genes *opa*, la unidad de repetición es una secuencia pentamérica (CTCTT). Hay entre 2 y 20 repeticiones CTCTT en cada gen opa

Por el contrario los genes *pilC* son controlados mediante una fila de residuos C. Algunos genes variables como pilC han sido modificados en el laboratorio para reemplazar cada tercer nucleótido del tramo homopolimérico para así no ser variable.

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.

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.

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.

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 específico para 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*.

5.2. Tropismos celulares de las proteínas opaque (Opa).

Las proteínas Opa (de opacidad) son constituyentes mayoritarios de las membranas externas de las especies patógenas 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).

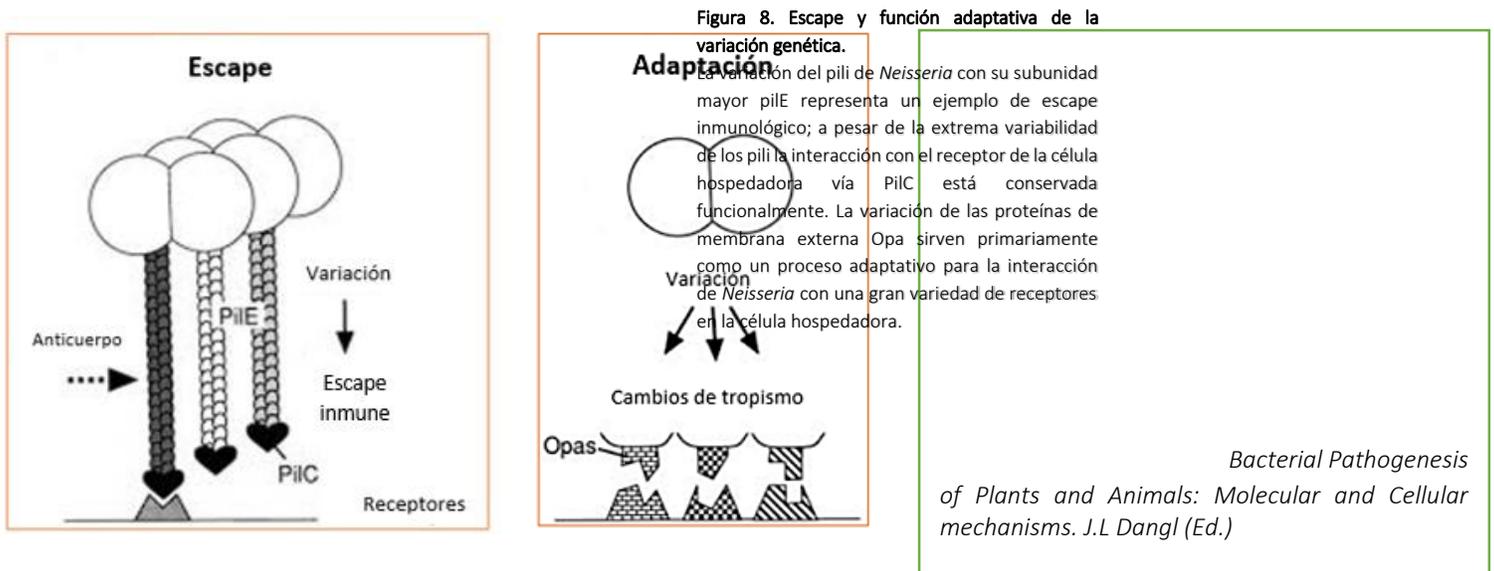
Las proteínas Opa desempeñan un papel destacado en varias funciones adherentes, tales como adhesión interbacteriana e interacción con las células epiteliales humanas y células fagocíticas.

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.

Las proteínas OpaA/OpaC parecen intervenir en el proceso de internalización de la bacteria mediante un sistema de endocitosis mediada por receptor.

5.3. 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 la Fig. 8.



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. 9*).

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 muy 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.

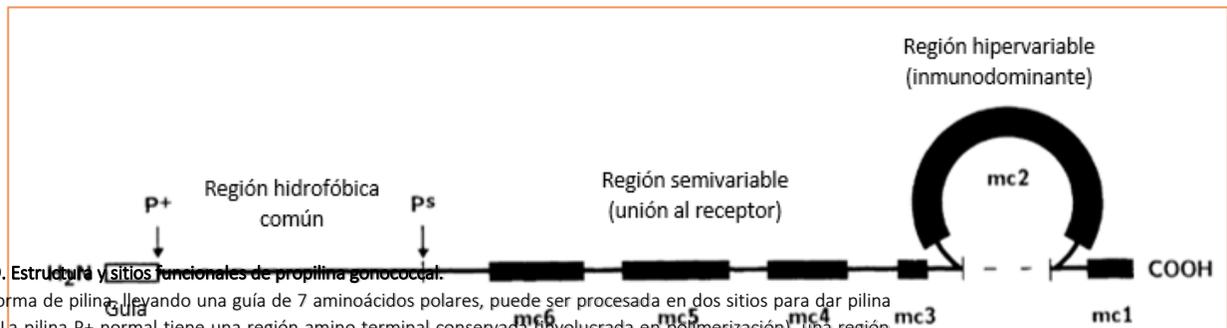


Figura 9. Estructura y sitios funcionales de pilina gonocócica.

La proforma de pilina, llevada una guía de 7 aminoácidos polares, puede ser procesada en dos sitios para dar pilina P+ o S. La pilina P+ normal tiene una región amino terminal conservada (involucrada en polimerización), una región central semivariable (presumiblemente asociada con funciones de receptor) y una región hipervariable que contiene los dominios inmunodominantes de pilina. Análisis de variantes isogénicas y heterogénicas localizaron todas las variaciones de secuencia de pilina en seis regiones minicassette (mc1-mc6), de las que mc2 exhibe el mayor grado de variabilidad.

Bacterial Pathogenesis of Plants and Animals: Molecular and Cellular mechanisms. J.L Dangl (Ed.)

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

El sello clínico de la infección por las neiserias 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 neiseriales. 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*. En el caso de *N. gonorrhoeae* la transmisión es por contacto directo por transmisión sexual, ya sea a través de la uretra masculina, cérvix femenino, el recto o la faringe. En el caso de las infecciones de cérvix son frecuentemente asintomáticas, lo cual dificulta su diagnóstico y tratamiento, y por lo tanto contribuye a la persistencia de la bacteria. En el caso de las infecciones de uretra, suelen ser sintomáticas.

La primera etapa en la infección es la colonización del epitelio de las mucosas (Fig. 10). Estas mucosas incluyen la uretra, el cérvix, las trompas de Falopio, el recto, la mucosa nasofaríngea y la conjuntiva. Como se ha indicado antes, los Pili tipo IV son los responsables del anclaje inicial a las células epiteliales de las superficies de las mucosas. En el caso de *N. gonorrhoeae* la pérdida de estos pili supone la pérdida de adherirse fuertemente a las membranas del trato genitourinario. En hombres voluntarios inoculados con *N. gonorrhoeae*, solo las bacterias que poseían pili colonizaban y producían una infección sintomática. De esta forma, casi todas las bacterias aisladas de la uretra expresaban proteínas Opa.

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”). Los lipo-oligosacáridos (LOS) con lacto-N-neotetrano en el terminal no solo se van a unir a los receptores uretrales sino que son un potente activador del complejo TLR4-CD14. Por otro lado, las porinas y la lipoproteína H.8 se unen a TLR2. Los fragmentos de peptidoglicanos en vesículas extramembranas son reconocidos por NLRs en el citoplasma de las células epiteliales.

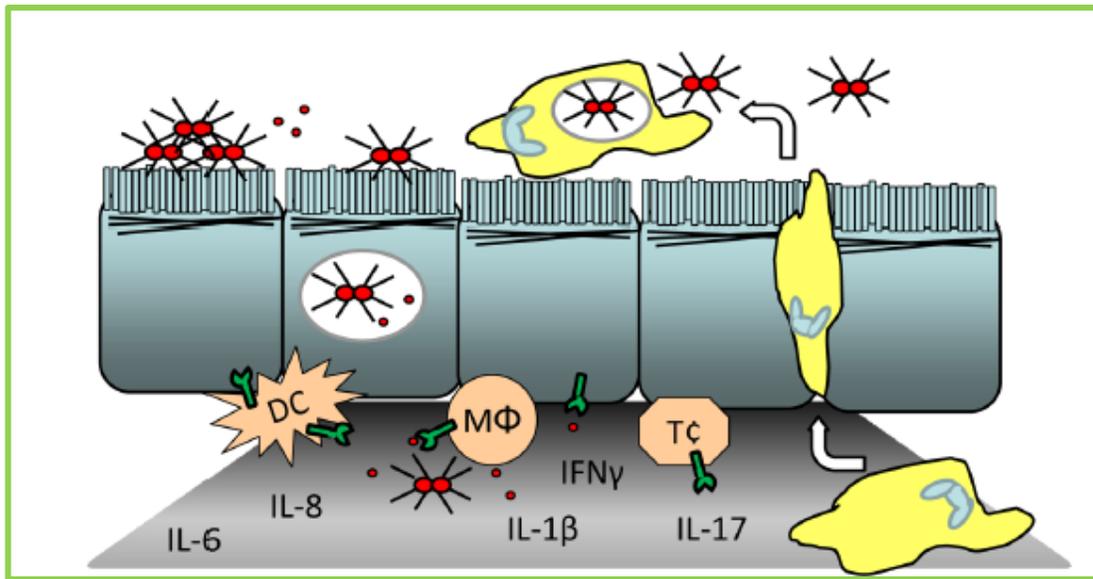


Figura 10. Reclutamiento de neutrófilos a los sitios de infección de neisserias patogénicas. Neisserias patogénicas usan el pili IV, las proteínas Opa y otras adhesinas para colonizar y ocasionalmente invadir el epitelio de las mucosas. Los productos bacterianos como los lipo-oligosacáridos (LOS), peptidoglicanos y lipoproteínas son liberados tanto libres como en la cara externa de las membranas de vesículas. Estos LOS estimulan los receptores NLR Y TLR en células epiteliales y células del sistema inmunitario como las células dendríticas, macrófagos o células T. Como resultado se establecen gradientes de citoquinas pro-inflamatorias que incluyen IL- 6, IL – 8, IL -1β, IL – 17 e interferón γ. Las citoquinas reclutan a los neutrófilos (en amarillo) e inducen su migración a través del epitelio, donde se unen y fagocitan a las bacterias. *Criss, A.K. & Seifert, H.S. (2012).*

Como consecuencia, la infección por las neisserias patogénicas promueve la liberación local de IL-8, IL-6, TNF, IL-1β y otras citoquinas, creando un microambiente que atrae y recluta a los neutrófilos (Fig. 10).

El movimiento de los neutrófilos hasta llegar al sitio de la infección sigue una serie de pasos entre los que se incluyen una adhesión fuerte a la vasculatura, migración transendotelial y cruce de los tejidos subendoteliales, hasta entrar en el tejido infectado. En hombres voluntarios infectados con *N. gonorrhoeae*, el reclutamiento de los neutrófilos a la uretra sucedía unos 2-3 días de media después de la infección. Del mismo modo, la aparición de neutrófilos en la orina era seguida por disuria y otros síntomas que indicaban una infección aguda. En experimentos con ratones se observa que el reclutamiento de

neutrófilos ocurre también en este tiempo anteriormente indicado. Sin embargo, el tiempo de reclutamiento de neutrófilos en el caso de *N. meningitidis* está peor determinado, pero la aparición de neutrófilos en el líquido cefalorraquídeo es usado como método diagnóstico en el caso de *N. meningitidis* y otras bacterias.

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. Sin embargo, en incubaciones in vitro de *N. gonorrhoeae* en presencia de neutrófilos, más del 80% de las bacterias extracelulares permanecen viables, y los neutrófilos en los que la fagocitosis está inhibida tienen una habilidad limitada para matar a *N. gonorrhoeae*.

Pero las neisserias patogénicas son capaces de modular y evadir estos mecanismos antimicrobianos. Entre los factores que protegen de las actividades destructoras a la bacteria está la **metaloproteinasa NG01686**. Se ha observado en exudados gonorreicos y en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con meningitis que las bacterias están unidas a los neutrófilos, así como dentro de éstos. De esta forma, in vivo los neutrófilos están relacionados con los dos tipos de neisserias patogénicas.

Por otro lado, las neisserias patogénicas 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. La posibilidad de sintetizar o no la cápsula durante el ciclo de vida de *N. meningitidis* pone de manifiesto que hay en momentos en su ciclo vital en los que esta cápsula es desventajosa, por ejemplo, cuando la bacteria se encuentra en el interior de una célula huésped.

También se pensó en un principio que el pili IV de la bacteria impedía la fagocitosis, pero estudios han desechado esta idea. Sin embargo, se ha demostrado que una fagocitosis mediada por opsonización mediante anticuerpos y/o complemento sí es muy eficiente.

La capsula de *N. meningitidis* enmascara los antígenos de superficie de forma que no puedan ser reconocidos por anticuerpos, el sistema de complemento o receptores de tipo lectina. De esta forma, no solo evita la opsonofagocitosis, sino también la muerte mediada por el sistema de complemento. Otro método de evasión de la fagocitosis es por la deposición e incorporación de ácido siálico en sus estructuras.

de superficie. Así, ya que este ácido siálico también se encuentra en la superficie de células de mamíferos, la bacteria no es antigénica para el sistema inmunitario. De hecho, el ácido siálico activado para realizar la reacción de sialización de la bacteria lo proporciona la célula humana, no la bacteria, lo que pone de manifiesto la enorme adaptabilidad de las neisserias patogénicas a los humanos.

N. gonorrhoeae también es capaz de limitar la fagocitosis mediada por complemento mediante la unión al factor del complemento H por la **porina PorB1A** de la bacteria. Tanto PorB1A como PorB1B contribuyen a la resistencia bacteriana en el suero.

Por otro lado, la porina PorA de *N. meningitidis* interacciona con C4BP (proteína de unión al factor de complemento 4b).

Por último, la variación continua de los antígenos presentados al sistema inmunitario del huésped permite que la bacteria siempre vaya un paso por delante de la respuesta humoral, previniendo la unión a la superficie de la bacteria y su posterior fagocitosis mediante receptores de inmunoglobulinas.

Aunque las neisserias patogénicas 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. Evidencia experimental sugiere que tanto las bacterias opsonizadas como las no-opsonizadas son susceptibles de ser fagocitadas por neutrófilos. En ausencia de opsonización, las proteínas Opa en la membrana extracelular de la bacteria median la fagocitosis realizada por neutrófilos.

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

Además, las bacterias impiden la apoptosis de los neutrófilos. 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 neisserias patogénicas modulan los programas apoptóticos de los neutrófilos.

Por otro lado, las neisserias patogénicas son capaces de resistir al daño oxidativo promovido por los neutrófilos. 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 detoxifican 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. Además de estos mecanismos, también hay una exposición de la bacteria a lactato producido por los neutrófilos en la glicolisis lo que hace que se aumente el consumo de oxígeno molecular por parte de la bacteria. Esto hace que disminuya el sustrato de la NADPH oxidasa y por lo tanto se generen menos ROS). Hay cepas de *N. meningitidis* con proteínas antioxidantes mutadas que tienen defectos en la supervivencia en las células epiteliales de cérvix de ratón, lo que implica que estas células también producen ROS. También hay lactobacillus comensales en el trato genital femenino que también producen ROS, aunque hay evidencias que sugieren que estos ROS no afectan significativamente a la supervivencia de *N. gonorrhoeae*.

Se ha observado que se producen más ROS cuando aumenta el número de bacterias Opa+, de forma que se ha hipotetizado con las ROS producidas por neutrófilos y otras células actúan como señal para las bacterias de que la inflamación ha comenzado y por lo tanto la bacteria debe iniciar un programa transcripcional que la proteja del daño oxidativo y no-oxidativo-.

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. Estos mecanismos patogénicos no benefician necesariamente a bacterias individuales, sino que probablemente funcionen mejor en poblaciones a gran escala, ayudando a una población de bacterias a replicarse, diseminarse y transmitirse.

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 neisseries patogénicas el acceso a nutrientes intracelulares (Fig. 11). Una vez que neisseria ha sido fagocitada por el neutrófilo, no solo tiene acceso a los nutrientes, sino también a fuentes de hierro, como son la holotransferrina o la lactoferrina, ya que la bacteria dispone de receptores para estas moléculas.

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 neisseries 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. 11). 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.

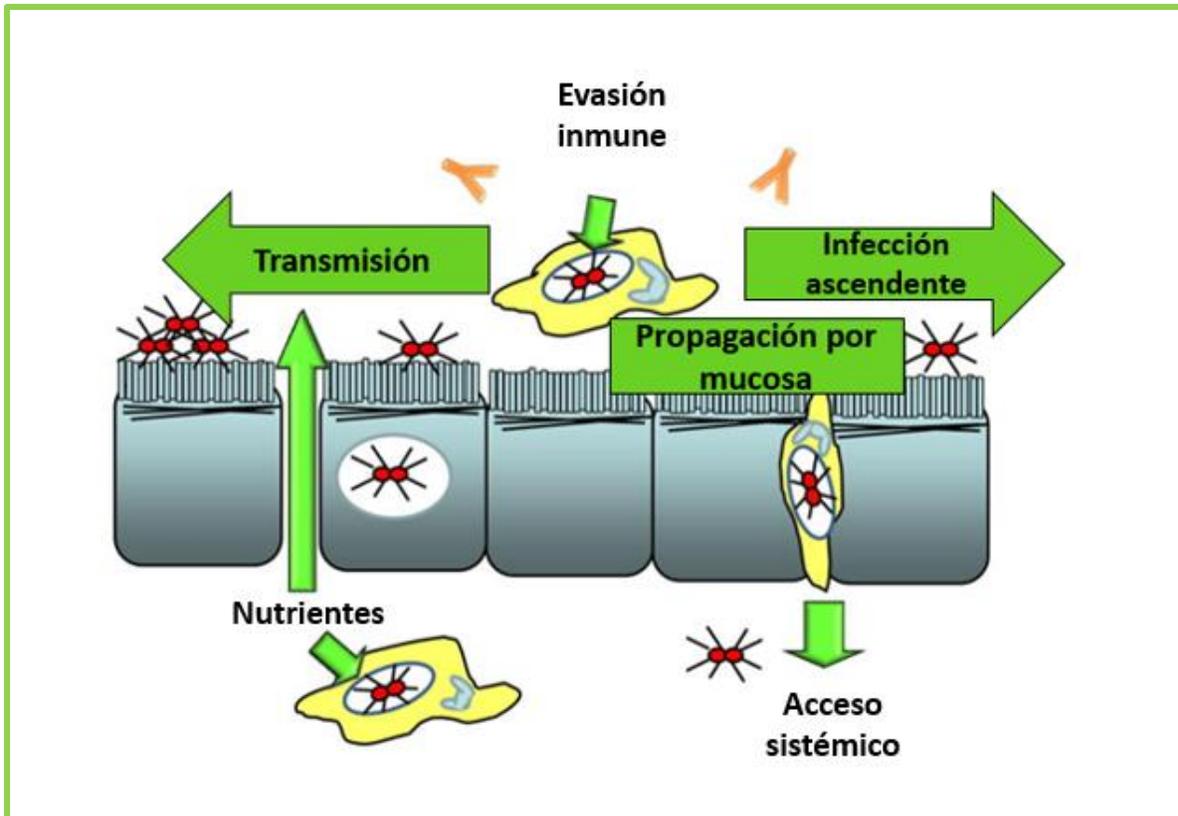


Figura 11: Modelo para explicar el papel de los neutrófilos en la diseminación de neisserias patogénicas. Perturbaciones en el epitelio durante la infiltración de los neutrófilos aumentan el infiltrado de suero y los nutrientes asociados para las neisserias extracelulares. Las neisserias que ya han sido fagocitadas por neutrófilos pueden acceder a estos nutrientes desde dentro del fagosoma. Las neisserias intracelulares evitan la vigilancia mediada por inmunidad humoral. La unión o fagocitosis de neutrófilos móviles permite a la bacteria moverse a tejidos más profundos, así como la transmisión a nuevos hospedadores. *Criss & Seifert (2012)*

Referencias:

- Cariad M. Evans, Catherine B. Pratt, Mary Matheson, Thomas E. Vaughan, Jamie Findlow, Ray Borrow, Andrew R. Gorringer, and Robert C. Read. *Clin Infect Dis.* (2011). **Nasopharyngeal Colonization by *Neisseria lactamica* and Induction of Protective Immunity against *Neisseria meningitidis*** PMID: 21148522
- Lourdes Almeida-González, Carlos Franco-Paredes, Luis Fernando Pérez, José Ignacio Santos-Preciado. (2004). **Enfermedad por meningococo, *Neisseria meningitidis*: perspectiva epidemiológica, clínica y preventiva.**
- Jennifer L. Edwards and Michael A. Apicella. (2004). **The Molecular Mechanisms Used by *Neisseria gonorrhoeae*. To Initiate Infection Differ between Men and Women.**
- Koneman. (2008). **Diagnostico Microbiológico.** Páginas: 542-567
- Lisa Craig, Niels Volkman, Andrew S. Arvai, Michael E. Pique, Mark Yeager, Edward H. Egelman, John A. Tainer. PMID: 16949362. (2006). **Type IV Pilus Structure by Cryo-Electron Microscopy and Crystallography: Implications for Pilus Assembly and Functions.**
- Virji M. *Nat Rev Microbiol.* (2009). **Pathogenic *neisseriae*: surface modulation, pathogenesis and infection control.**
- Oberfell KP, Seifert HS (2014). **Mobile DNA in the pathogenic *Neisseria*.** *Microbiol Spectrum* 3(1):MDNA3-0015-2014.
- A. I. Taylor and M. S. Thoman (1964) **The genetic map of *E. coli* K-12.**
- J. A. F. Dempsey, W. Litaker, A. Madhure, T. L. Snodgrass, and J. G. Cannon. **Physical Map of the Chromosome of *Neisseria gonorrhoeae* FA1090 with Locations of Genetic Markers, Including *opa* and *pil* Genes.** (1991), p. 5476-5486 0021-9193/91/175476-11\$02.00/0
- Smith JM, Smith NH, O'Rourke M, Spratt BG. **How clonal are bacteria?** (1993) Vol. 90, pp. 4384-4388.
- Rotman E & Seifert H.S (2014). **The Genetics of *Neisseria* Species.** Vol. 48: 405-431
- Jeffrey L. Dangl (1994). **Bacterial Pathogenesis of Plants and Animals: Molecular and Cellular mechanisms.** Volumen 192 de Current topics in microbiology and immunology
- Criss, A.K. and Seifert, H.S. (2012). **A bacterial siren song: intimate interactions between *Neisseria* and neutrophils.** *Nat. Rev. Microbiol.* 10: 178-190.
- Roger Y. Stanier, Julio R., Villanueva (1996) **Microbiología.** P. 690-695

En la red:

- https://es.wikipedia.org/wiki/Neisseria_meningitidis
- Scanning Electron Microscopy Images de Central Microscopy Research Facility of University of Iowa (<http://cmrf.research.uiowa.edu/scanning-electron-microscopy-images>)
- Blog del Dr. Santiago Díaz Risco, <https://diazrisco.wordpress.com/2010/04/18/gonorra-evolucion-historica>
- Antimicrobe. Infectious Disease & Antimicrobial Agents: <http://www.antimicrobe.org/h04c.files/history/Gonorrhoea.asp>
- Antimicrobe. Infectious Disease & Antimicrobial Agents: <http://www.antimicrobe.org/h04c.files/history/Gonorrhoea.asp>