

Nuevas genovariantes del serovar L2 de *Chlamydia trachomatis* causantes de proctitis

Fernando M Guerra-Infante, *;** Marcela López-Hurtado, * Roberto Villagrana-Zesati*

RESUMEN

Los serotipos L1, L2 y L3 de *Chlamydia trachomatis* son la causa del linfogranuloma venéreo, que es un padecimiento crónico del sistema linfático y que es transmitido sexualmente. Desde el año 2003 en Europa, Estados Unidos, Canadá y Australia ha habido brotes de infección por el serotipo L2 que origina proctitis, en lugar del linfogranuloma venéreo, en hombres que tienen sexo con hombres. Al parecer, estas cepas de L2 son una nueva genovariante (L2b) que da origen a padecimientos diferentes al linfogranuloma venéreo. Sin embargo, el análisis del genoma de L2b no difiere de manera importante del genoma de L2 (L2/434 UB) por lo que se ha considerado que la cepa L2b es una cepa clásica de L2. A pesar de lo anterior, nuevas genovariantes de L2 están apareciendo, mismas que no dan el linfogranuloma venéreo clásico o proctitis. Por esto es necesario analizar su genoma, para identificar los cambios genéticos ocurridos que hacen que estas cepas den lugar al linfogranuloma venéreo o proctitis.

Palabras clave: genovariantes del serovar L2, *Chlamydia trachomatis*, proctitis.

ABSTRACT

Lymphogranuloma venereum (LGV) is a chronic disease of the lymphatic system that is transmitted sexually and whose etiologic agents are L1, L2 and L3 serotypes of *Chlamydia trachomatis*. Since 2003 in Europe, USA, Canada and Australia have had outbreaks of L2 serotype infection that develops proctitis in place of LGV in men who have sex with men. It appears that these strains are a new genovariant of L2 serotype (L2b) that is developing a different pathology to LGV. However, the analysis of L2b genome not differs significantly to L2 genome (L2/434 UB) for which L2b is considered as a classic L2 strain. Despite this, new genovariantes of L2 and L2b are appearing, which develop or not LGV or proctitis so we need to do an analysis of its genome to identify genetic changes that these strains shown.

Key words: Genovariant of L2 serotype, *Chlamydia trachomatis*, and proctitis.

RÉSUMÉ

Les sérotypes L1, L2 et L3 de *Chlamydia trachomatis* sont la cause de la lymphogranulomatose vénérienne, qui est un système lymphatique chronique et est transmis par voie sexuelle. Depuis 2003 en Europe, aux Etats-Unis, le Canada et l'Australie, il ya eu des flambées de sérototype L2 rectite engagés, au lieu de la lymphogranulomatose vénérienne chez les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes. Apparemment, ces souches sont une nouvelle genovariante L2 (L2b) qui donne lieu à des conditions autres que la lymphogranulomatose vénérienne. Cependant, l'analyse du génome L2b ne diffère pas significativement du génome de L2 (L2/434 UB) comme cela a été constaté que la souche est une souche L2b classique L2. Malgré cela, genovariantes nouvelles de L2 font leur apparition, ce ne sont pas une rectite classique ou LGV. Par conséquent, il est nécessaire d'analyser son génome pour identifier les changements génétiques qui ont eu lieu pour rendre ces souches à engendrer ou à une rectite LGV.

Mots-clés: genovariantes de sérovar L2, rectite à *Chlamydia trachomatis*.

RESUMO

Os serótipos L1, L2 e L3 de *Chlamydia trachomatis* são a causa de linfogranuloma, que é um sistema linfático crónica e é transmitido sexualmente. Desde 2003 na Europa, EUA, Canadá e Austrália, houve surtos de sorotipo L2 proctite incorridos, em vez de linfogranuloma em homens que fazem sexo com homens. Aparentemente, essas cepas são uma nova genovariante L2 (L2B) que dá origem a outras condições de linfogranuloma venéreo. No entanto, a análise do genoma L2B não difere significativamente a partir do genoma de L2 (L2/434 UB) como foi encontrado que a estirpe é uma estirpe L2B clássica L2. Apesar disso, genovariantes novos de L2 estão surgindo, estes não são proctite clássico ou LGV. Por isso, é necessário analisar o seu genoma para identificar alterações genéticas que ocorreram para fazer estas estirpes dar origem ou proctite LGV.

Palavras-chave: genovariantes de serovar L2, *Chlamydia trachomatis* proctite.

Los serotipos L1, L2 y L3 de *Chlamydia trachomatis* son los causantes del linfogranuloma venéreo, un padecimiento crónico del sistema linfático de transmisión sexual.¹ En México existe la obligación de reportar al Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CNVECE) de la Secretaría de Salud los casos de linfogranuloma venéreo. En la semana 32 del año 2010 se informó que hubo 115 casos de linfogranuloma venéreo (en el 2009 se reportaron 156 casos), de los que 89 se diagnosticaron en mujeres y 26 en hombres. Los estados con mayor frecuencia fueron: Chihuahua, Tabasco y Tamaulipas.²

El cuadro clínico característico del linfogranuloma venéreo se inicia con una úlcera pequeña e indolora en los genitales masculinos (pene) o femeninos (labios vulvares).^{1,3} La infección se disemina a los ganglios linfáticos inguinales, lo que produce inflamación y enrojecimiento de la piel en el área inguinal afectada. También pueden palparse ganglios alrededor del recto en varones o mujeres que practican relaciones sexuales anales.^{1,3} Alrededor de los ganglios hay sangre, flujo de pus o diarrea. Puede haber dolor abdominal y tenesmo. En las mujeres pueden aparecer fistulas, que son conexiones anormales entre la vagina y el recto. Los primeros síntomas se manifiestan entre los 3 y 30 días posteriores al contacto sexual.^{1,3}

La mayoría de los pacientes con proctitis son hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (HSH) que acuden al médico debido a la secreción rectal.^{3,4,5} Al inicio, estos pacientes tienen dolor intenso ano-rectal con secreción rectal, rectorragia y episodios de diarrea o estreñimiento que acompañan a la proctitis secundaria hemorrágica.^{3,4,5} Ward y su grupo (2007) describieron que

cerca de 96% de los hombres que tienen relaciones con individuos del mismo sexo con infección por linfogranuloma venéreo tuvieron signos y síntomas de proctitis.⁶ El 79% tuvo secreción rectal, 69% dolor rectal y 58% rectorragia.⁶ El examen endoscópico suele revelar ulceraciones aftosas en las mucosas con apariencia estrellada. Por lo general, la mucosa rectal está inflamada.³⁻⁶ A pesar de esto, 69% de los varones con infección en el recto por *C. trachomatis* permanecen asintomáticos; la mayor parte de estas infecciones no son causadas por los serotipos L1, L2 ó L3.⁷

La primera etapa en la aparición de la proctitis se caracteriza por el surgimiento de una lesión papular insensible en el surco coronal o el tallo del pene.^{3,5} La segunda etapa es la manifestación de linfadenitis inguinal (Bubon).^{3,5} En 40% de los casos la inflamación puede ser bilateral. Otro signo clínico son las depresiones lineales fibróticas paralelas al ligamento inguinal, bordeados de arriba a abajo por ganglios linfáticos inflamados y eritematosos cubiertos por piel (signo de “groove”).^{3,4,5,8} En algunas ocasiones este signo puede ser bilateral, aunque esto es raro.⁸ La tercera etapa es crónica cuando no se trata y se caracteriza por la formación de estenosis ano-rectal, abscesos perirectales y elefantiasis genital.^{3-5,8} Puede haber deformidades en el pene que condicionan el “pene en saxofón”.⁹

A pesar de que en enero de 2004 se alertó a los médicos urólogos y ginecoobstetras de Europa acerca del surgimiento de grupos de casos de linfogranuloma venéreo en hombres que tienen relaciones sexuales con hombres que manifiestan un síndrome rectal. El diagnóstico se retrasó considerablemente debido a que no se tomó en cuenta la posibilidad de que este síndrome se debió a una infección por *C. trachomatis*.⁵ Por ejemplo, Forrester informó un caso de un joven de 26 años de edad, homosexual con VIH, tratado por enfermedad Crohn durante casi un año, antes de ser diagnosticado como linfogranuloma venéreo.¹⁰

Epidemiología del linfogranuloma venéreo

En Europa, antes del año 2003, el linfogranuloma venéreo se notificaba en raras ocasiones, porque se consideraba una infección de transmisión sexual, que sólo era endémica en países subdesarrollados de África, como Etiopía, así como en ciertos países en desarrollo del Continente Asiático, como Tailandia.^{11,12} En general, los serovares causantes de linfogranuloma venéreo son los responsables de 7 a 19% de todas las úlceras genitales que ocurren en África.^{12,13} Sin embargo, en los últimos años se ha visto el

* Departamento de Inmunología e Infectología Perinatal. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinoza de los Reyes.

** Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México, DF.

Correspondencia: Dr. Fernando M Guerra-Infante. Departamento de Inmunología e Infectología Perinatal. Instituto Nacional de Perinatología. Montes Urales 800, colonia Lomas Virreyes. México 11100 DF. Correo electrónico: fguerra_96@yahoo.com
Recibido: 9 de junio 2011. Aceptado: 8 de diciembre 2011.

Este artículo debe citarse como: Guerra-Infante FM, López-Hurtado M, Villagrana-Zesati R. Nuevas genovariantes del serovar L2 de *Chlamydia trachomatis* causantes de proctitis. Ginecol Obstet Mex 2012;80(3):208-217.

resurgimiento de linfogranuloma venéreo como una de las principales infecciones de transmisión sexual en Europa y en el Continente Americano, sobre todo en hombres que tienen relaciones sexuales con hombres.^{3-10, 14}

El primer brote de linfogranuloma venéreo que se produjo en Europa fue en el año 2003 y lo reportaron Gota y Nieuwenhuis, quienes dieron a conocer 13 casos en el Centro de Infecciones de Trasmisión Sexual de Erasmus Medisch de Rotterdam, Holanda.^{5,16} Más recientemente se han notificado brotes en muchos países en ambos lados del Atlántico, entre ellos: Francia, Inglaterra, Alemania y Canadá.^{3-6, 17} Por ejemplo, entre mayo de 2004 y noviembre de 2005, en Alemania se registraron 61 casos confirmados de linfogranuloma venéreo.¹⁸ Una característica interesante de estos brotes es que la mayoría de los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres tuvieron lesiones en los genitales o proctitis sanguinolenta provocada, principalmente por el serotipo L2 de *C. trachomatis*, en especial por un nuevo subtipo o subvariante denominada L2b.^{19, 20}

En el año 2004 hubo mayor incidencia de linfogranuloma venéreo en Holanda, donde se reportaron 62 casos, el doble del número de casos registrados en 2003 (30 casos).²¹ Del mismo modo, en Alemania, el número promedio de casos notificados mensualmente casi se duplicó de dos por mes en 2004 a cuatro por mes en el año 2005.¹⁸ La verdadera incidencia de linfogranuloma venéreo quizás sea mayor, sobre todo entre los hombres homosexuales, en virtud de que el linfogranuloma venéreo es una enfermedad de declaración obligatoria en muchos países europeos.

En general, el linfogranuloma venéreo es casi seis veces más común en varones que en mujeres y es más común en la población blanca, aunque puede afectar a cualquier raza.²² Los límites de edad de los pacientes, en los diversos estudios, son 26 y 48 años.^{4, 23} El número total de casos de linfogranuloma venéreo notificados entre 2002 y 2007 fue de 1,693, de los que 648 se registraron de Inglaterra, 556 en Francia, 255 en Holanda, 159 en Alemania, 45 en Bélgica, 18 en Dinamarca, 8 en Portugal y 4 en España.²⁴

A pesar de lo anterior, un estudio multicéntrico (cuatro clínicas localizadas en Londres y Brighton) realizado en 2009 informó una baja prevalencia de linfogranuloma venéreo cuando analizó 4,825 muestras uretrales y 6,778 muestras rectales de hombres homosexuales (0.9 y 0.004%,

respectivamente).²⁵ Para serotipos diferentes al linfogranuloma venéreo fue de 6.06% para muestras rectales y de 3.21% para muestras uretrales. Esta información sugiere una disminución en el número de casos, aunque sigue siendo un patógeno importante que puede causar síntomas y secuelas graves que facilitan la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana y de la hepatitis C.²⁵

En América, los brotes de linfogranuloma venéreo se han registrado en Canadá y Estados Unidos.¹⁴⁻¹⁷ Curiosamente, una gran proporción de estos pacientes también eran positivos al VIH, muy similar a lo que ocurre en países europeos, como en Inglaterra, en donde casi 76% de los pacientes con diagnóstico de linfogranuloma venéreo también lo eran positivos para el VIH. Del mismo modo, en Francia, 85% de la población estudiada con linfogranuloma venéreo era seropositiva para el VIH, o el de Alemania, en donde 96% de los casos de linfogranuloma venéreo eran VIH positivos.^{3, 18, 24, 26}

El agente etiológico

El agente etiológico implicado en la patogénesis del linfogranuloma venéreo es *C. trachomatis*.¹ Este germe es una bacteria intracelular obligada que se subdivide en numerosos serovares o serotipos (Cuadro 1).^{1, 27} Los serovares responsables del linfogranuloma venéreo son: L1, L2 y L3. Estos serovares son mucho más invasivos que los serovares A-K, porque pueden mantenerse viables aún después de ser endocitados por los macrófagos, causar infecciones sistémicas y diseminarse a los nódulos de los ganglios linfáticos inguinales.^{1, 28} La mayor parte de los brotes de 2003 a 2005 en Europa fueron causados por el serovar L2.^{19, 20} Por ejemplo, en el brote de Inglaterra, el 100% de los casos fue causado por el serovar L2.^{24, 28}

Cuadro 1. Serotipos de *Chlamydia trachomatis*

Grupo	Serotipo	Enfermedad
Linfogranuloma venéreo	L1, L2, L2b?, L2a, L3	Linfogranuloma venéreo
TRIC	A, B, Ba, C	Tracoma
TRIC	D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J, Ja, K	Conjuntivitis de inclusión (adultos neonatos), infecciones genitales (UNG, epididimitis, cervicitis, salpingitis, EIP) y neumonía neonatal

*UNG, uretritis no gonocócica. EIP, enfermedad inflamatoria pélvica.

El serovar L2 se subdivide en los subtipos L2, L2' y el L2a, con base en la diferencia en la secuencia de aminoácidos de cada uno de los subtipos.^{4,19} En el año 2003 se reconoció otro subtipo como cepa Amsterdam o cepa L2b, esta cepa se identificó como la causa principal del brote de linfogranuloma venéreo en hombres homosexuales ocurrido en Holanda en el 2003 y se identificó como una genovariante del gen *ompA* del serovar L2.¹⁹ El subtipo L2b ha estado circulando en Amsterdam desde el año 2000; sin embargo, esta genovariante se ha identificado en muestras clínicas obtenidas en San Francisco, California, en la década de 1980.²⁹

En la actualidad, la genovariante L2b se ha identificado como el principal agente etiológico en la mayor parte de los brotes recientes de linfogranuloma venéreo en Europa y Canadá.^{17,20} De hecho, en Francia, 70% de las cepas secuenciadas pertenecieron al tipo L2b.²⁶ En Australia también se ha reportado como la principal causa de linfogranuloma venéreo, lo mismo que en New York, en hombres homosexuales.^{30,31}

En muestras rectales de homosexuales de Australia se han reportado nuevos subtipos diferentes a L2b, denominados: L2c, L2d y L2e.³² Las diferencias entre estas genovariantes y la genovariante L2b (Figura 1) son mutaciones puntuales en los dominios de las regiones variables 1, 2 y 4 del gen *ompA* (Vs1, Vs2 y Vs4).³² En Portugal también se han descrito otras genovariantes de L2 denominadas: L2f y L2g que tienen mutaciones pun-

tiales en el domino Vs2 (Figura 2).³³ La genovariante L2f proviene de una muestra endocervical de una mujer sin síntomas ni signos de linfogranuloma venéreo, mientras que la genovariante L2g proviene de una lesión ano-rectal de un homosexual.³³ Si bien en América Latina no existe información acerca de otras genovariantes diferentes a L2b, hace poco se describió en México el serotipo L2, y una nueva genovariante cuyo cambio se observó en el dominio Vs1 (Figura 1). Las muestras provenían de raspados endocervicales de mujeres infériles heterosexuales sin signos ni síntomas de linfogranuloma venéreo.³⁴

Diferencias genotípicas entre los serotipos A, D y L2

Al tratar de explicar porqué la genovariante L2b origina proctitis en lugar de un linfogranuloma venéreo como sí lo hacen las genovariantes L2, L2' y L2a Thomson y su grupo³⁵ analizaron y compararon, en primer lugar, el genoma de los serotipos A y D con el genoma de L2 y, en segundo lugar, compararon el genoma de L2 con el de L2b.³⁵ El genoma del serovar L2 se compone de un solo cromosoma circular de 1.039 Mb y un plásmido de 7499 pb, que codifica para 889 y ocho secuencias codificadoras (CDS, secuencias codificantes de proteína completa), respectivamente³⁵ (Cuadro 2). La secuencia y el contenido de genes del plásmido son idénticos a los publicados por Comanducci y su grupo en 1988,³⁶ lo que sugirió un buen análisis de la secuencia nucleotídica obtenida por Thomson y sus colaboradores.³⁵

Región VS1							
					320		
	251					320	
L2/434	TGGGTGCCAA	GCCTACAAC	GCTACAGGCA	ATGCTGCAGC	TCCATCCACT	TGTACAGCAA	GAGAGAATCC
144276-L2	-----*	*****	*****	*****	*****	*****	*****
128C-07-L2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
LSa	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
L2b	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L2c	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
L2d	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
L2e	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
cepa-56	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
cepa6	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****

Figura 1. Secuencias nucleotídicas de las regiones Vs1 y Vs4 del gen *ompA* de diferentes serotipos y genotipos del serovar L2 de *Chlamydia trachomatis*. Las cepas 56 y 6 se aislaron de mujeres mexicanas infériles.

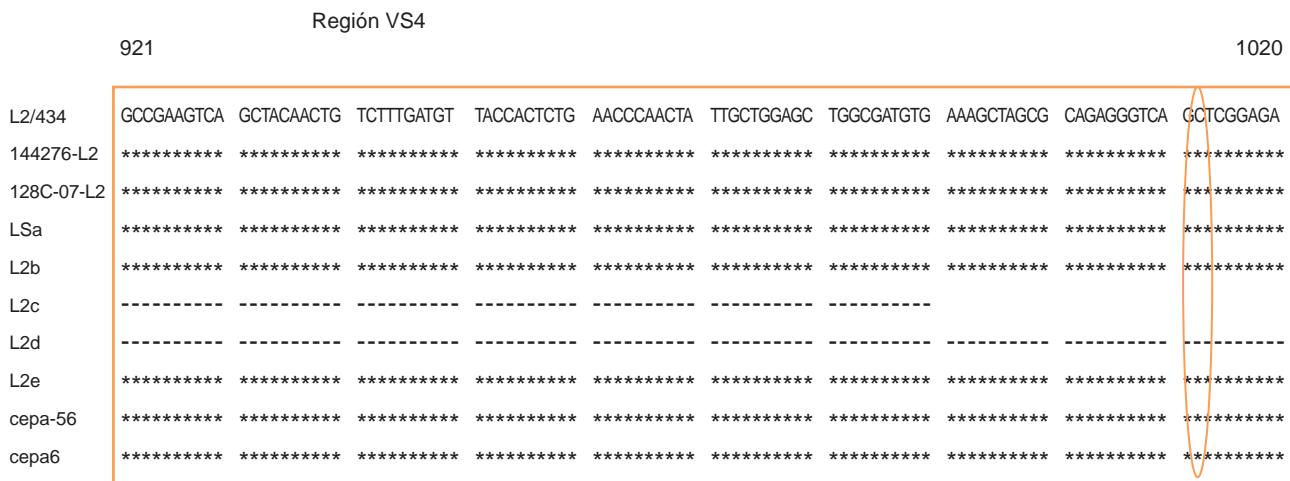


Figura 2. Secuencias nucleotídicas de las regiones Vs2.

Cuadro 2. Propiedades generales del genoma de *Chlamydia trachomatis* de diferentes serovares

Serovar	D	A	L2	L2B
Cepa	UW-3	Har-13	L2/434	UCH-1
Biovariante	Genital	Ocular	Linfogranuloma venéreo	Linfogranuloma venéreo *
Tamaño (pb)	1,042,519	1,044,459	1,038,842	1,038,869
Contenido G+C (%)	41.27	41.27	41.33	41.33
N.º de CDs	894	920	889	889
Operones rRNA	2	2	2	2
tRNA	37	37	37	37
n de pseudogenes	5	8	15	15

Al comparar la secuencia nucleotídica del genoma del serotipo L2 con los serotipos D (cepa UW-3) y A (cepa Har-13) se demostró que los genomas de los tres serotipos son similares en tamaño, en número de CDs y en la composición de nucleótidos.³⁵ Una comparación detallada de los CDs mostró que 846 CDs son comunes para los tres genomas. El porcentaje de identidad de los nucleótidos de los CDs entre la cepa L2 y los serovares A y D fue de 99.53% y 99.55%, respectivamente. Una comparación entre las secuencias del genoma de los serotipos A y D identificó sólo 18 supresiones significativas, que produjeron ocho pseudogenes (con marcos de lectura abierta interrumpida) en el serotipo A, mientras que al compararlos con L2 se detectaron 15 pseudogenes diferentes.³⁵

La zona de plasticidad fue el sitio de mayor variación genética entre los diferentes serovares.^{37,38,39} La variación en

el tamaño de la zona de plasticidad del serotipo L2 se debe, en gran parte, a la pérdida del gen(s) de la citotoxina, que se ha eliminado casi por completo en el serotipo L2, solo dos restos del gen de la citotoxina (CTL0420 y CTL0421) se han observado en este serotipo.^{40,41} Sin embargo, esto no es una prueba de la decadencia del genoma de la cepa L2 porque el gen CTL0426A es un remanente formado por la supresión probable de dos CDs ortólogos de la citotoxina (CT173/CTA_0189 y CT174/CTA_190 con función desconocida).³⁵ Otros CDs de la zona de plasticidad que muestran variación son los de la fosfolipasa D (PLD). A la fosfolipasa D la codifican cuatro CDs (CTL0409, CTL0411, CTL0413, y CTL0414). Los CDs de CTL0411 y CTL0413 aparecen intactos y con su secuencia conservada a los ortólogos de los serotipos A y D, mientras que las CDs CTL0409 y CTL0414 han sufrido múltiples mutaciones de cambio en su marco de lectura (supresión).³⁵

Las secuencias codificadoras de las fosfolipasas D en la zona de plasticidad se conocen por ser únicas para *C. trachomatis* y están relacionadas con *C. muridarum*, patógeno de los roedores.⁴² Sin embargo, hay otras dos CDS de la PLDs que no están ubicadas en la zona de plasticidad de la cepa L2, que son: CTL0339 y CTL0536 y se encuentran en el locus 1 y 3, respectivamente. En el locus 1 y 3 existen secuencias conservadas de PDL en toda la familia *Chlamydiaceae*. El análisis filogenético de las CDS de todas las PLDs de *C. trachomatis* ha evidenciado que estos genes son distintos filogenéticamente a las CDS de las PLDS de los otros miembros de la familia *Chlamydiaceae*.³⁵

También existen evidencias de la pérdida de genes funcionales (pseudogenes) fuera de la región de la zona de plasticidad de la cepa L2. (Cuadro 3) Los genes CDS CTL0228 y CTL0856 son pseudogenes de la fumarato hidratasa (fumarasa C, enzima que cataliza reacciones específicas para la forma *trans* del fumarato, el resultado es la hidratación del fumarato para la formación de malato) y de la succinato deshidrogenasa (SDH; que es una flavoproteína que cataliza la oxidación del succinato a fumarato con la reducción secuencial de flavin adenin dinucleótido [FAD] unido a la enzima y al hierro no hemínico), respectivamente. Las fumarasas intervienen en el ciclo del ácido cítrico, para convertir el fumarato en oxaloacetato o L-malato dependiendo de la disponibilidad de oxígeno.^{43,44} Mientras que la fum C aparece intacta en los serovares A

Cuadro 3. Descripción de los pseudogenes del serovar de L2 de *Chlamydia trachomatis*

Gen	Función
CTL0161	Proteína hipotética conservada
CTL0228	FumC
CTL0292	Proteína hipotética conservada
CTL0409	Fosfolipasa D
CTL0414	Fosfolipasa D
CTL0415	Proteína hipotética conservada
CTL0418	Proteína putativa de membrana
CTL420	Citotoxina
CTL0421	Citotoxina
CTL0426A	Proteína hipotética conservada
CTL0552	Proteína putativa integral de membrana
CTL0578	Proteína hipotética conservada
CTL0612	Proteína de la membrana interna
CTL627	Arginina decarboxilasa dependiente de purovoil
CTL856	SdhC

y D, en la cepa L2 el gen ortólogo (CTL0228) tiene dos mutaciones de cambio.⁴⁵ Al igual que la fum C, la succinato deshidrogenasa también es necesaria para el metabolismo del fumarato, porque facilita la interconversión aeróbica de fumarato y succinato.

En *Escherichia coli*, la SDH la codifican cuatro genes, *sdhA-D*. Los genes *sdhA* y *sdhB* codifican para la flavoproteína succinato deshidrogenasa. Las proteínas de SDHA y SDHB están ancladas a la membrana citoplasmática por las proteínas SDHC y SDHD. La proteína SDHC también posee un dominio en el citocromo b556 que afecta el transporte de electrones.⁴⁶

El análisis de las secuencias de los genes ortólogos *sdhA*, *sdhB* y *sdhC*, *sdhD* (CTL0854-CTL0856) en el genoma de *C. trachomatis* mostró que ninguno poseía homología. Sin embargo, es evidente que si bien los genes *sdhA* y *sdhB* permanecen intactos, el gen *sdhC* ortólogo de *C. trachomatis* muestra una mutación en el marco de lectura (en el codón 103) y en otras mutaciones puntuales.³⁵ (Cuadro 3) Esto parece ser específico de *C. Trachomatis* porque estos genes están intactos en otras bacterias de la familia *Chlamydiaceae* (datos no mostrados).

Otros pseudogenes potencialmente importantes en L2 se encuentran dentro de CDS que codifica para una arginina descarboxilasa (CTL0627/PvlArgDC, *aaxB*) y un antiportador arginina-ornitina (CTL0628/ArcD; *aaxC*).⁴⁷ El sistema de intercambio arginina-agmatina lo codifican los genes *aaxA-C*. El gene *aaxA* (CTL0626) codifica para una porina de membrana externa que estimula la actividad de este sistema; el gene *aaxB* (CTL0627) codifica para una apoenzima arginina descarboxilasa que sufre un rompimiento (Ser53) para generar una subunidad beta pequeña y una subunidad alfa de mayor tamaño en presencia del cofactor de piruviol, que es decisiva para la actividad catalítica de la arginina descarboxilasa y el gene *aaxC* (CTL0628) que codifica para un antiportador arginina-agmatina en la membrana citoplasmática.⁴⁸ En conjunto, estas proteínas catalizan la importación de L-arginina y la descarboxilación de la arginina para producir agmatina, así como la exportación de agmatina a la célula huésped.

La agmatina es una amina biogénica que actúa como un “secretagogo” que puede inhibir *in vitro* todas las isoformas del óxido nítrico sintasa (NOS).^{35,47} Debido a lo anterior se ha sugerido que este sistema podría tener varias posibles funciones: aumentar el pH intracelular para resistir la acidificación e inhibir la síntesis de óxido nítrico de la célula

huésped.^{35,47} Esta última función es de gran importancia en células como los macrófagos en las que la generación de una forma inducible de NOS (iNOS) es crítica para la formación de óxido nítrico, un mediador fundamental de la citotoxicidad y acciones citostáticas de estas células.⁴⁷ Finalmente, los genes *aaxB* y *aaxC* están presentes en los tres genomas de las cepas A, D y L2. Sin embargo, ambos CDS están intactos en la cepa de D (CT373 y CT374, respectivamente), pero en la cepa L2, el gen CTL0627 (*aaxB*) muestra una mutación mientras que en la cepa A, el gen *aaxC* ortólogo muestra múltiples mutaciones.³⁵

Diferencias génicas entre L2 y L2b

La cepa L2/UCH-1 (L2b) utilizada en este estudio se obtuvo de un varón con proctitis de un brote ocurrido en Londres en el año 2006; el genoma de esta bacteria fue secuenciado con un pirosecuenciador 454/Roche GS20.³⁵ El análisis genómico de la cepa L2b mostró 573 pb (de las que 457 ocurren dentro del CDS) diferentes que distinguen a este subtipo con serotipo L2, (Delcher y colaboradores 1999).⁵⁰

La variación más notable (por su posible utilidad para el diagnóstico) se encuentra dentro un CDS que codifica para una fosfoproteína reclutadora de actina translocada (TARP; CTLon_0712).³⁵ Al entrar *C. trachomatis* a la célula huésped da como resultado la reconfiguración del citoesqueleto de actina de la célula huésped. Se propone que la proteína TARP contribuye a la fagocitosis del patógeno; es decir, a la incorporación de cuerpos elementales (EBs) a la célula huésped mediante el reclutamiento de la actina en el sitio de unión del EB en la célula huésped.⁵¹ Las diferencias que hay en el gen que codifica a la proteína TARP en las cepas L2, A, y D, son dos grandes pérdidas y un alto número de SNPs⁵² (siglas en inglés de polimorfismo de un solo nucleótido), que además pueden influir en el tropismo de los diferentes serovares.⁵⁰ Las secuencias nucleotídicas de TARP de las cepa L2b y L2 son muy similares entre ellas, sobre todo las serotipos A-K.³⁵ Sin embargo, hay un número de notables diferencias entre la secuencia de TARP de la cepa L2 con la cepa L2b. Por ejemplo, hay una pérdida de 12 bases entre los nucleótidos 718 y 731 de la cepa L2, lo que resulta en la pérdida de cuatro aminoácidos (asparagina, isoleucina, tirosina y ácido glutámico).³⁵ También hay inserción de tres bases entre las bases 480 y 481 de la cepa L2, lo que resulta en la adición de una alanina en este punto, y tres bases suprimidas dentro del marco de lectura entre las bases 933 y 937,

resultando en la pérdida de una alanina.³⁵ Estos últimos se presentan en una de las seis unidades de repetición en la región 5' que codifica en la inserción-pérdida de TARP.⁵²

Otras diferencias interesantes es que existen tres SNPs entre las cepas L2b y L2 que, en realidad, se conservan en las posiciones de nucleótidos que corresponden a las cepas de la A y D, lo que sugiere un papel para la recombinación intra-serovar en la diversidad de estos genes, como se ha informado para la clamidia.⁵³ Sólo hay un SNP en la cepa L2b (un residuo de C en las cepas L2, A, y D por una T en la cepa L2b) que parece ser única. Esto, además de la supresión de 12 pb mencionada, y que podrían ser el blanco potencial para diferenciar mediante diagnóstico molecular entre la cepa L2 de L2b. Estos datos muestran que la pérdida de genes o pequeños cambios mutacionales pudieran ser el motor principal para configurar su capacidad de adaptación al huésped y al tropismo por el tejido.

CONCLUSIONES

La principal región de variabilidad génica está en la zona de plasticidad y se debe, principalmente, a la pérdida-degeneración del gen de la citotoxina.⁴⁰ Las fosfolipasas juegan un papel importante en la patogénesis de una amplia gama de bacterias patógenas, en *Chlamydia* los genes PLDs son los sitios más importantes de variación en las secuencias nucleotídicas, que muestran las pérdidas múltiples y las mutaciones de cambio en el marco de lectura.³⁵

⁴² *C. trachomatis* tiene tres grupos de genes PLD, dos de ellos se encuentran en todos las cepas de *Chlamydia* y *Chlamydophila*, y el tercer grupo, se encuentra en la zona de plasticidad y es específica para *C. trachomatis* y *C. muridarum*. Además de que filogenéticamente esta fosfolipasa D es distinta a los otros dos grupos de fosfolipasas D.³⁵ Una observación interesante de las fosfolipasas D de la zona de plasticidad es que éstas se han ampliado por separado en *C. trachomatis* y *C. muridarum*, lo que sugiere que esta familia de enzimas pudo haber desempeñado, y sigue desempeñando, un papel importante en la adaptación de cada especie.

La comparación de estos genomas (entre las cepas A, D, L2 y L2b) ha demostrado que la pérdida en la capacidad metabólica de *C. trachomatis* se debe a la falta de genes que codifican para las enzimas citrato sintasa, aconitasa, y la isocitrato deshidrogenasa.⁵⁴ En el caso de la cepa L2 la carencia en la conversión del succinato a fumarato

(pseudogene SDHC) y de fumC indicaría que el ciclo de los ácidos tricarboxílicos no funciona en las cepas que desarrollan linfogranuloma venéreo. Sin embargo, la clamidía parece haber adquirido recientemente un gen ortólogo para una proteína transportadora de dicarboxilato (sodTi), esta proteína trasporta el 2-oxoglutarato o glutamato del citoplasma de la célula huésped al microorganismo.⁵⁵ Si ambas enzimas (fumarasa y succinato deshidrogenasa) están inactivas, entonces no puede haber 2-oxoglutarato para convertirse en oxalacetato, por lo que el 2-oxoglutarato debe ser transportado mediante el intercambio directo de succinato y succinil CoA para la síntesis y generación de GTP, esto mismo sucede con los plástidos de las células vegetales (Lara 2003).⁵⁵

Aún no está clara la importancia de encontrar mutaciones en genes de la arginina descarboxilasa (PvlArgDC) y del antiportador arginina-ornitina (ARCD) en las cepas L2 y A, respectivamente, genes que supuestamente están intactos en la cepa D. Estudios del pH de las inclusiones de *C. trachomatis* indican que hay un equilibrio homeostático entre la célula huésped y el parasitismo con esta bacteria⁵⁷ y un pH cercano a 6.0, parece poco probable que represente por sí solo las diferencias en la evolución de las enfermedades asociadas con las diferentes biovariantes de *C. trachomatis* de la vía genital.

Si bien la pérdida de una vía metabólica en particular (por ejemplo, la biosíntesis de triptófano) representa una diferencia única e importante, entre las biovariantes de *Chlamydia*,^{52,58} es probable que esto sea sólo una observación única, porque no hay otras características genéticas individuales que correlacionen con un biotipo y un fenotipo en particular. Así, los nuevos datos de la secuencia del genoma de L2 y L2b muestran que los factores determinantes del tropismo y la invasividad del linfogranuloma venéreo son, quizás, multifactoriales y complejos.

La impresión más abrumadora del genoma de la cepa L2 de *C. trachomatis* es la falta de una gran variación en términos de su capacidad de codificación en comparación con los otros serotipos y esto está aún más reforzado cuando se compara el genoma del serotipo L2 con el del subtipo L2b. Debido a lo anterior, se ha propuesto que las cepas causantes de proctitis sólo han producido una nueva epidemia de linfogranuloma venéreo que rápidamente se ha difundido en Europa, a pesar de que los síntomas causados por las cepas de proctitis son atípicos. A pesar de lo anterior, es imposible descartar que los SNPs no

cambien sutilmente la función o el nivel de expresión de los genes clave dentro del genoma de L2 o L2b, y tampoco podemos decir que no existe alguna secuencia nucleótida adicional que pudiera explicar las diferencias en las manifestaciones clínicas de ambos padecimientos. Por último, es importante analizar el genoma completo de las nuevas genovariantes de L2 que están apareciendo para poder concluir porqué no inducen linfogranuloma venéreo.

REFERENCIAS

1. Manavi K. A review on infection with *Chlamydia trachomatis*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2006;20:941-951.
2. Dirección General de Epidemiología. Boletín epidemiología, semana 51, 2009 www.dgepi.salud.gob.mx
3. Stary G, Stary A. Lymphogranuloma venereum outbreak in Europe. JDDG 2008;6:1-5.
4. Kapoor S. Re-emergence of lymphogranuloma venereum. JEADV 2008;22:409-416.
5. Williams D, Churchill D. Ulcerative proctitis in men who have sex with men: an emerging outbreak. BMJ 2006;14:99-100.
6. Ward H, Martin I, Macdonald N, et al. Lymphogranuloma venereum in the United Kingdom. Clin Infect Dis 2007;44:26-32.
7. Annan NT, Sullivan A, Nori A, Naydenova P, et al. Rectal Chlamydia -A reservoir of undiagnosed infection in MSM. Sex Transm Infect 2009;85:176-179.
8. Aggarwal K, Jain VK, Gupta S. Bilateral groove sign with penoscrotal elephantiasis. Sex Transm Infect 2002;78:458.
9. Kumaran MS, Gupta S, Ajith C, Kalra N, et al. Saxophone penis revisited. Int J STD AIDS 2006;17:65-66.
10. Forrester B, Pawade J, Horner P. The potential role of serology in diagnosing chronic lymphogranuloma venereum (LGV): a case of LGV mimicking Crohn's disease. Sex Transm Infect 2006;82:139-140.
11. Ndinya-Achola JO, Kihara AN, Fisher LD, Krone MR, et al. Presumptive specific clinical diagnosis of genital ulcer disease (GUD) in a primary health care setting in Nairobi. Int J STD AIDS 1996;7:201-205.
12. Osoba AO. Lymphogranuloma venereum in women. Arch AIDS Res 1994;8:221-234.
13. Onile BA, Tolu O. Genital ulcer disease in Ilorin, Nigeria. Afr J Clin Exper Microbiol 2002;3:21-23.
14. Ahdoott A, Kotler DP, Suh JS, Kutler C, Flamholz R. Lymphogranuloma venereum in human immunodeficiency virus-infected individual in New York City. J Clin Gastroenterol 2006;40:385-390.
15. Nieuwenhuis RF, Ossewaarde JM, Gotz HM, Dees J, et al. Resurgence of lymphogranuloma venereum in Western Europe: an outbreak of *Chlamydia trachomatis* serovar L2 proctitis in the Netherlands among men who have sex with men. Clin Infect Dis 2004;39:996-1003.
16. Nieuwenhuis RF, Ossewaarde JM, van der Meijden WI, Neumann HA. Unusual presentation of early lymphogranuloma venereum in an HIV-1 infected patient: effective treatment with 1 g azithromycin. Sex Transm Infect 2003;79:453-455.

17. Kropp RY, Wong T, Canadian LGV Working Group. Emergence lymphogranuloma venereum in Canada. CMAJ 2005;172:1674-1676.
18. Bremer V, Meyer T, Marcus U, Hamouda O. Lymphogranuloma venereum emerging in men who have sex with men in Germany. Eur Surveill 2006;11:152-154.
19. Spaargaren J, Fennema HS, Morré SA, de Vries HJ, Coutinho RA. New lymphogranuloma venereum *Chlamydia trachomatis* variant, Amsterdam. Emerg Infect Dis 2005;11:1090-1092.
20. Christerson L, de Vries HJ, de Barbeyrac B, Gaydos CA, et al. Typing of lymphogranuloma venereum *Chlamydia trachomatis* strains. Emerg Infect Dis 2010;16:1777-1779.
21. van de Laar MJ, Koedijk FD, Gotz HM, de Vries HJ. A slow epidemic of LGV in the Netherlands in 2004 and 2005. Euro Surveill 2006;11:150-152.
22. Simms I, Ward H, Martin I, Alexander S, Ison C. Lymphogranuloma venereum in Australia. Sex Health 2006;3:131-133.
23. Götz HM, Ossewaarde JM, Nieuwenhuis RF, van der Meijden WI, et al. A cluster of lymphogranuloma venereum among homosexual men in Rotterdam with implications for other countries in Western Europe. Ned Tijdschr Geneeskd 2004;148:441-442.
24. Savage EJ, van de Laar MJ, Gallay A, van der Sande M, et al, and European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI) network. Lymphogranuloma venereum in Europe, 2003-2008. Euro Surveill 2009;14:1-5.
25. Ward H, Alexander S, Carder C, Dean G, et al. The prevalence of lymphogranuloma venereum infection in men who have sex with men: results of a multicentre case finding study. Sex Transm Infect 2009;85:173-175.
26. Herida M, de Barbeyrac B, Sednaoui P, Scieux C, et al. Rectal lymphogranuloma venereum surveillance in France 2004-2005. Euro Surveill 2006;11:1-3.
27. López-Hurtado M, Guerra-Infante FM. Papel de los anticuerpos en el desarrollo de la infección por *Chlamydia trachomatis* y su utilidad en el diagnóstico. Perinatol Reprod Hum 2002;16:140-150..
28. Macdonald N, Ison C, Martin I, Alexander S, et al. Initial results of enhanced surveillance for lymphogranuloma venereum (LGV) in England. Euro Surveill 2005;10. Disponible en línea: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2629>
29. Spaargaren J, Schachter J, Moncada J, de Vries HJ, et al. Slow epidemic of lymphogranuloma venereum L2b strain. Emerg Infect Dis 2005;11:1787-1788.
30. Stark D, van Hal S, Hillman R, Harkness J, Marriott D. Lymphogranuloma venereum in Australia: Anorectal *Chlamydia trachomatis* serovar L2b in men who have sex with men. J Clin Microbiol 2007;45:1029-1031.
31. Halse TA, Musser KA, Limberger RJ. A multiplexed real-time PCR assay for rapid detection of *Chlamydia trachomatis* and identification of serovar L-2, the major cause of lymphogranuloma venereum in New York. Mol Cell Probes 2006;20:290-297.
32. Stary G, Meyer T, Bangert C, Kohrgruber N, et al. New *Chlamydia trachomatis* L2 strains identified in a recent outbreak lymphogranuloma venereum in Vienna, Austria. Sex Transm Dis 2008;35:377-382.
33. Gomes JP, Nunes A, Florindo C, Ferreira MA, et al. Lymphogranuloma venereum in Portugal. Sex Transm Dis 2009;36:88-91.
34. de Haro-Cruz MJ, Deleón-Rodríguez I, Escobedo-Guerra MR, López-Hurtado M, et al. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical specimens of infertile Mexican women. Enferm Infect Microbiol Clin 2011;29:102-108.
35. Thomson NR, Holden MT, Carder C, Lennard N, et al. *Chlamydia trachomatis*: Genome sequence analysis of lymphogranuloma venereum isolates. Genome Res 2008;18:161-171.
36. Comanducci M, Ricci S, Ratti G. The structure of a plasmid of *Chlamydia trachomatis* believed to be required for growth with mammalian cells. Mol Microbiol 1988;2:531-538.
37. Read TD, Brunham RC, Shen C, Gill SR, et al. Genome sequence of *Chlamydia trachomatis* MoPn and *Chlamydia pneumoniae* AR39. Nucleic Acids Res 2000;28:1397-1406.
38. Read TD, Myers GS, Brunham RC, Nelson WC, et al. Genome sequence of *Chlamydia caviae* (*Chlamydia psittaci* GPIC): examining the role of niche-specific genes in the evolution of the *Chlamydiaceae*. Nucleic Acids Res 2003;31:2134-2147.
39. Belland RJ, Scidmore MA, Crane DD, Hogan DM, et al. *Chlamydia trachomatis* cytotoxicity associated with complete and partial cytotoxin genes. Proc Natl Acad Sci 2001;98:13984-13989.
40. Carlson JH, Hughes S, Hogan D, Cieplak G,. Polymorphisms in the *Chlamydia trachomatis* cytotoxin locus associated with ocular and genital isolates. Infect Immun 2004;72:7063-7072.
41. Nelson DE, Crane DD, Taylor LD, Dorward DW, et al. Inhibition of Chlamydiae by primary alcohols correlates with the strain-specific complement of plasticity zone phospholipase D genes. Infect Immun 2006;74:73-80.
42. Guest JR, Roberts RE. Cloning, mapping, and expression of the fumarase gene of *Escherichia coli* K-12. J Bacteriol 1983;153:588-596.
43. Guest JR, Miles JS, Roberts RE, Woods SA. The fumarase genes of *Escherichia coli*: Location of the *fumB* gene and discovery of a new gene (*fumC*). J Gen Microbiol 1985;131:2971-2984.
44. Shaw AC, Gevaert K, Demol H, Hoorelbeke B, et al. Comparative proteome analysis of *Chlamydia trachomatis* serovar A, D and L2. Proteomics 2002;2:164-186.
45. Cunningham L, Guest JR. Transcription and transcript processing in the *sdhCDAB-sucABCD* operon of *Escherichia coli*. Microbiology 1998;144:2113-2123.
46. Graham DE, Xu H, White RH. *Methanococcus jannaschii* uses a pyruvate-dependent arginine decarboxylase in polyamine biosynthesis. J Biol Chem 2002;277:23500-23507.
47. Giles TN, Fisher DJ, Graham DE. Independent inactivation of arginine decarboxylase genes by nonsense and missense mutations led to pseudogene formation in *Chlamydia trachomatis* serovar L2 and D strains. BMC Evol Biol 2009;9:166-198.
48. Auguet M, Viossat I, Marin JG, Chabrier PE. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase by agmatine. Jpn J Pharmacol 1995;69:285-287.
49. Delcher AL, Kasif S, Fleischmann RD, Peterson J, et al. Alignment of whole genomes. Nucleic Acids Res 1999;27:2369-2376.
50. Jewett TJ, Fischer ER, Mead DJ, Hackstadt T. Chlamydial TARP is a bacterial nucleator of actin. Proc Natl Acad Sci 2006;03:15599-15604.
51. Carlson JH, Porcella SF, McClarty G, Caldwell HD. Comparative genomic analysis of *Chlamydia trachomatis* oculotropic and genitotropic strains. Infect Immun 2005;73:6407-6418.

52. Gomes JP, Bruno WJ, Nunes A, Santos N, et al. Evolution of *Chlamydia trachomatis* diversity occurs by widespread interstrain recombination involving hotspots. *Genome Res* 2007;17:50-60.
53. McClarty G. Chlamydial metabolism as inferred from the complete genome sequence. In: *Chlamydia: Intracellular biology, pathogenesis, and immunity*. New York: Wiley, 1999; 69-100.
54. Kubo A, Stephens RS. Sustrate-specific diffusion of select dicarboxylates through *Chlamydia trachomatis* PorB. *Microbiology* 2001;147:3135-3140.
55. Lara-Núñez A, Rodríguez-Sotres R. Plástidos no fotosintéticos: su papel metabólico y los intercambiadores de su membrana interna. *REB* 2003;22:130-137.
56. Dautry-Varsat A, Subtil A, Hackstadt T. Recent insights into the mechanisms of *Chlamydia* entry. *Cell Microbiol* 2005;7:1714-1722.
57. Fehlner-Gardiner C, Roshick C, Carlson JH, Hughes S, et al. Molecular basis defining human *Chlamydia trachomatis* tissue tropism. A possible role for tryptophan synthase. *J Biol Chem* 2002;277:2893-2903.