



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

***TREPONEMA PALLIDUM:*
EL MICROORGANISMO SIGILOSO.**

Autor: Laura Herraiz Benítez

Fecha: Julio 2020

Tutor: Maria Rosa Cenamor Jerez

1. RESUMEN

Treponema pallidum es el agente causal de la sífilis, una infección de transmisión sexual (ITS) cuya incidencia ha aumentado en los últimos años. Es una bacteria capaz de diseminarse gracias a su movimiento en sacacorchos, de invadir diferentes tejidos y persistir en el organismo humano evadiendo la respuesta inmune. De esta manera, si el paciente no es tratado con antibiótico, este microorganismo es capaz de provocar una infección crónica en el hospedador sin que se presenten manifestaciones clínicas de la enfermedad. Recientemente se han realizado avances en el cultivo *in vitro* de forma continua de esta bacteria. Esto ha permitido conocer mecanismos a través de los cuales esta espiroqueta alcanza tejidos más profundos, que son de gran interés para entender su patogenia. Además, la identificación y clasificación de las lipoproteínas de su membrana externa es un paso crucial para el desarrollo de una posible vacuna.

PALABRAS CLAVE: *Treponema pallidum*, patogenia, invasión, evasión de la respuesta inmune, lipoproteínas.

2. INTRODUCCIÓN

Treponema pallidum subespecie *pallidum* es la espiroqueta causante de la sífilis, una infección de transmisión sexual que afecta alrededor de 36 millones de personas alrededor del mundo, (1) con 12 millones de nuevos casos cada año según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2). En cuanto a la incidencia de la sífilis en la población española, esta ha incrementado en los últimos años (3.428 casos en el 2018, sin tener en cuenta los casos de sífilis congénita)(3), principalmente debido a cambios en los hábitos sexuales y la relajación de las medidas de prevención (4). El riesgo de adquirir la enfermedad varía entre un 10 y un 60%, dependiendo de varios factores a tener en cuenta, tales como el número de exposiciones, la actividad sexual o la distribución de las lesiones de la pareja afectada (5). El uso incorrecto del preservativo es también un factor importante en la transmisión de ITS. Esto último, junto con nuevos casos detectados en la población española, indican que debería otorgársele una mayor importancia a la educación sexual en nuestro país (4).

El nombre *Spirochaete* fue introducido por Christian Gottfried Ehrenberg en el año 1838. La palabra *Spirochaete* procede del griego y significa “espiral”, haciendo referencia a su forma y a su cuerpo delgado y alargado (6). La confirmación de que, en efecto, *T. pallidum* subespecie *pallidum* es el agente etiológico de la sífilis fue dada por Fritz Schaudinn y Erich Hoffmann en el año 1905, a través de la observación del microorganismo en los chancros de pacientes que padecían la enfermedad. Fueron ellos mismos quienes primero describieron la morfología y el curioso movimiento de esta bacteria (7). A pesar del tiempo transcurrido desde su descubrimiento, a día de hoy este microorganismo continúa siendo un enigma (8).

Una característica a destacar de esta bacteria es su capacidad para permanecer en el cuerpo humano durante años sin que la persona infectada padezca manifestaciones clínicas, si el paciente no es tratado con antibiótico. Debido a la poca antigenicidad de su membrana externa, su capacidad para evadir al sistema inmune y su rápida diseminación en el organismo se lo conoce como el microorganismo sigiloso (del inglés “the stealth pathogen”). Cómo este patógeno extracelular se mantiene de forma latente en el cuerpo continúa siendo un misterio. Tampoco se conoce en qué posición anatómica se encuentra esta bacteria durante los periodos de latencia. Experimentos con conejos, animal usado como modelo porque es el que

mejor refleja la enfermedad y la inmunopatología en el hombre, sugieren que *T. pallidum* podría usar folículos pilosos o incluso nervios como nichos protectores (9). La verdad es que el hecho de que, hasta ahora, no se haya podido cultivar *in vitro* de forma continua este microorganismo, salvo ciertas cepas adaptadas como la cepa Nichols de *T. pallidum*, siempre ha supuesto una desventaja a la hora de estudiar con profundidad esta bacteria (10). A pesar de ello, se han hecho grandes avances gracias a estudios *in vitro* en cultivos con células epiteliales de conejo, en los que se ha conseguido mantener su crecimiento de forma limitada, aunque el tiempo de generación es muy largo (11). Como se comentará más adelante, se ha visto que lo más probable es que *T. pallidum* atraviese las uniones intercelulares de las células endoteliales para acceder al torrente sanguíneo y a tejidos más profundos, ayudado por su movimiento tan especial en forma de sacacorchos (12). Además, se ha demostrado que la interacción con algunas células humanas favorece su patogenicidad (1). También se ha puesto de manifiesto que ciertas moléculas de su membrana externa y ciertas enzimas están relacionadas con el proceso de unión celular, inflamación y destrucción tisular de gran importancia en su patogenicidad (13). A pesar de tener uno de los genomas más pequeños entre todas las bacterias patógenas (9) y tener funciones metabólicas limitadas (11), *T. pallidum* es una bacteria capaz de resistir las especies reactivas de oxígeno a las que se somete, pasar desapercibida para la respuesta inmune del ser humano (14), acceder rápidamente al sistema circulatorio y diseminarse por todo el organismo. Además, es uno de los pocos patógenos capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y la placenta (13).

La incidencia y prevalencia de la sífilis, así como la estructura tan especial de esta bacteria han despertado el interés de numerosos investigadores para tratar de explicar sus mecanismos patogénicos. Sin embargo, por la falta de métodos desarrollados de cultivo *in vitro* continuo, algunos de estos aún no se conocen (2). A pesar de esto, gracias al entendimiento de algunos de los mecanismos de invasión e interacción con las células utilizados por la bacteria (1)(12) y la caracterización de su ultraestructura, se han realizado grandes avances que podrían aportar más luz a investigaciones relacionadas con el desarrollo de una vacuna eficaz (15).

3. OBJETIVOS

La finalidad de este trabajo es poner de manifiesto las características, estructurales y fisiológicas, más destacables de *Treponema pallidum*, así como sus posibles factores de virulencia, haciendo especial hincapié en aquellos que le permiten sobrevivir en el organismo sin ser eliminado por la respuesta inmune de la persona infectada y los mecanismos más probables de invasión hacia tejidos más profundos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se ha basado en una revisión bibliográfica de artículos científicos, libros y webs oficiales sobre el tema aquí tratado, obtenidos de buscadores como *Google Scholar*. La mayor parte de los datos y la información aquí recogidos han sido extraídos de publicaciones e informes de la OMS, *PubMed* y CDC.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ESTRUCTURA, BIOLOGÍA Y OTRAS CARACTERÍSTICAS DEL MICROORGANISMO

5.1.1 Morfología

Su nombre procede del griego *trepo* y *nema*, que significan “hilo que gira”, haciendo referencia a la morfología y movimiento de la bacteria (16). El cuerpo celular de *Treponema pallidum* es fino, helicoidal, varía entre 6 y 15 μm de longitud y posee 0,2 μm de diámetro. El citoplasma de la célula está rodeado por una membrana citoplasmática (IM), que le otorga estabilidad osmótica. También está rodeada por una capa delgada de peptidoglicano en su pared celular que le aporta rigidez estructural (17). Además, como otras bacterias Gram negativas, está rodeada por una membrana externa o vaina (OM). Sin embargo, lo que la diferencia de la mayoría de este tipo de bacterias es que no contiene lipopolisacárido (LPS o endotoxina) ni apenas proteínas integrales de membrana en ella. Esta característica le hace ser pobre en antígenos de membrana que puedan ser detectados por el sistema inmune de la persona infectada (9).

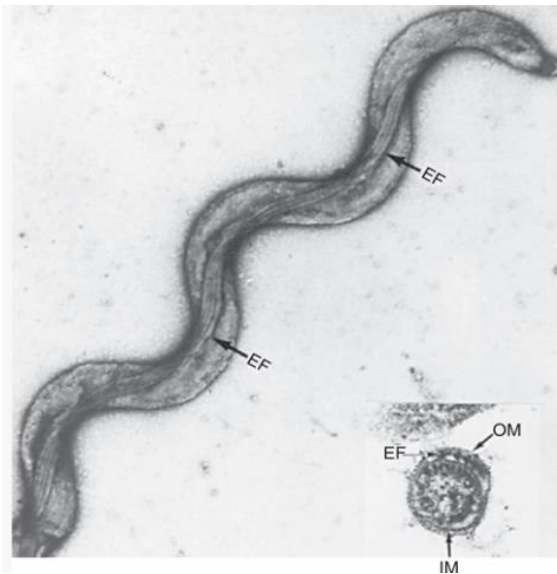


Figura 1: micrografía electrónica de *Treponema pallidum*, subespecie *pallidum* en preparación completa. Se identifican fácilmente los endoflagelos. Recuadro inferior: micrografía electrónica de *T. pallidum*, en corte fino. Se destaca la posición de los endoflagelos (EF) en el espacio periplásmico entre la membrana interna o citoplasmática (IM) y la externa (OM) (17).

Gracias a experimentos de fraccionamiento celular se sabe que la mayoría de las proteínas de membrana están asociadas a la membrana citoplasmática (15).

Entre la membrana externa y la membrana citoplasmática, se encuentra el espacio periplásmico. Es aquí donde se observan endoflagelos o flagelos periplásmicos, formando el llamado filamento axial, que comienza en los extremos del microorganismo y lo cubre describiendo una curva a su alrededor (Fig.1) (Fig. 2). Gracias a esto, posee su movimiento característico en forma de sacacorchos que le otorga una gran capacidad móvil, incluso en ambientes viscosos, como la sangre o fluidos intersticiales (15).

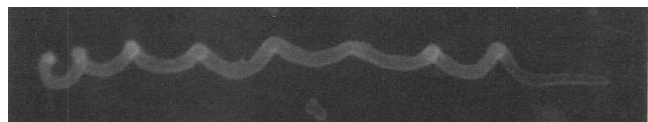


Figura 2: micrografía electrónica que muestra la morfología espiral de *T. pallidum* subespecie *pallidum* (Nichols) (18).

5.1.2 Visualización

Esta espiroqueta no puede ser observada a través del microscopio óptico utilizando la tinción de Gram. De hecho, la denominación *pallidum* del latín quiere decir “pálido”, pues esta tinción no es efectiva para esta espiroqueta (16). Sí puede teñirse con colorantes a base de plata (Fig. 4). Además, las formas móviles pueden observarse en el microscopio de campo oscuro o a través de anticuerpos específicos antitreponema marcados con colorantes fluorescentes (Fig. 3) (19).

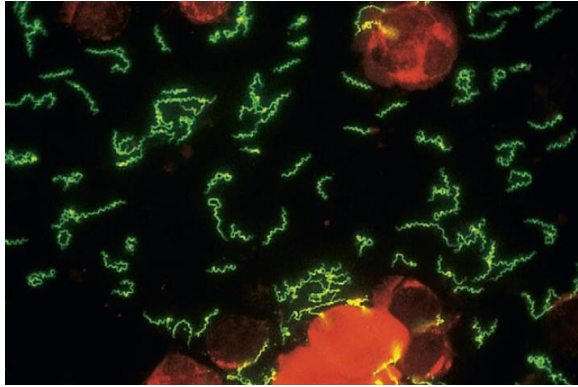


Figura 3: Imagen de Inmunofluorescencia de *T. pallidum* (19).

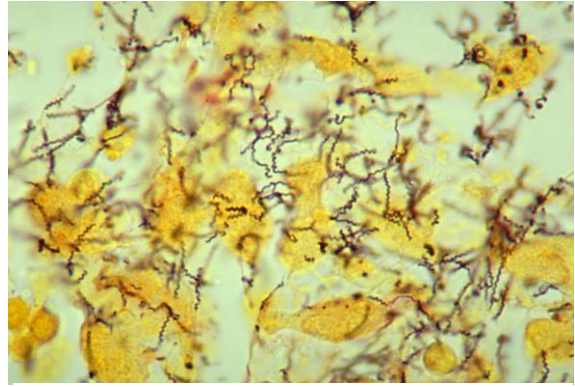


Figura 4: Tinción de plata de *T. pallidum* en una muestra de tejido testicular de conejo (20).

5.1.3 Movimiento

T. pallidum es activamente móvil, siendo el movimiento de tres formas: un movimiento giratorio sobre su eje, primero en una dirección y luego en otra; un movimiento de estiramiento y relajación alternativamente; y un movimiento lateral, de flexión o balanceo (21).

La diseminación de la bacteria hacia diferentes nichos humanos está relacionada con la quimiotaxis. Esto puede tener gran relevancia en su patogenia, como se explicará más adelante. Un aspecto destacable es su capacidad de movimiento incluso en ambientes viscosos y en fluidos biológicos (22), haciendo su transmisión posible también a través de estos. Esta bacteria es propulsada en estos medios gracias a los endoflagelos que se encuentran en el periplasma, por lo que no están en contacto directo con los fluidos externos. Quizás es por esta razón que la inmunización con proteínas procedentes de los endoflagelos no da lugar a una protección completa (23).

En los estudios de infección en conejo se ha visto que *T. pallidum* alcanza los vasos sanguíneos 5 minutos después de su inoculación intratesticular o intradermal y se encuentra en tejidos más profundos en 3 horas (23)(12). Esto demuestra su rápida invasión y diseminación. El movimiento de esta espiroqueta sería por ello un factor de virulencia, esencial para la diseminación y extravasación del microorganismo, fundamental para la patogénesis de *T. pallidum* (24).

5.1.4 Metabolismo

T. pallidum tiene un metabolismo muy limitado (23). Su poca capacidad biosintética es una de las causas que quizás impide su cultivo *in vitro* de forma continua (8). Investigaciones sobre *Treponema denticola* y *T. pallidum* revelaron que varios genes y capacidades metabólicas que permitían la multiplicación *in vitro* de *T. denticola* estaban ausentes en *T. pallidum*. Se confirmó por el Proyecto Genoma (*Genome Sequencing Project*) que el genoma de *T. pallidum* (cepa Nichols) está formado aproximadamente por 1,14 Mpb y que codifica 1.041 proteínas. Pocas bacterias tienen un genoma tan pequeño como este. En comparación, *Escherichia coli* posee 4,6 Mpb (23). El estudio de su genoma confirma la asunción de que *T. pallidum* depende de las rutas biosintéticas del hospedador para muchas de sus necesidades metabólicas (25).

Inicialmente, estas espiroquetas se consideraron bacterias anaerobias estrictas, pero ahora se sabe que en realidad se trata de bacterias microaerófilas (26). A través del análisis de su

genoma, actualmente se conoce su capacidad para utilizar la glucosa de manera oxidativa (23). El acceso a la gran cantidad de suministro de glucosa que hay en sangre y fluidos intersticiales explica por qué *T. pallidum* puede contar con la glicólisis como su principal ruta metabólica para la obtención de ATP. Sin embargo, no puede obtener energía a través de otras fuentes de carbono alternativas y carece del ciclo del ácido tricarbónico y de una cadena de transporte de electrones (23)(26). Además, no posee las rutas ni las enzimas necesarias para la síntesis *de novo* de cofactores, aminoácidos o ácidos grasos, pero sí posee las enzimas necesarias para su interconversión (23)(8) y para la síntesis de DNA (8). Esto lleva a creer que *T. pallidum* obtiene la mayoría de las macromoléculas del hospedador que infecta, usando rutas de interconversión para generar otras a su vez (23). En cuanto a las reacciones metabólicas esenciales para *T. pallidum*, merece la pena mencionar que 28 de ellas están relacionadas con el metabolismo de nucleótidos: 11 reacciones tienen lugar en el metabolismo de las purinas y el resto de ellas participan en el metabolismo de las pirimidinas (8).

El tiempo de supervivencia *in vitro* de esta bacteria es mayor cuando se encuentra en concentraciones bajas de oxígeno, lo que demuestra su sensibilidad a este. Sin embargo, paradójicamente, esta bacteria es capaz de diseminarse y alcanzar tejidos bien oxigenados, por lo que debe tener un mecanismo a través del cual lidia con las especies reactivas de oxígeno. Se ha comprobado que carece de enzimas como la superóxido dismutasa, catalasa o peroxidasa, que detoxifican las especies reactivas de oxígeno (23)(14). Pero se han identificado genes que codifican otras enzimas protectoras del oxígeno, como la forma reducida de la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) oxidasa (nox) (26) o la enzima llamada **neelaredoxina** (Tp0823). Esta última enzima es una superóxido reductasa (SOR) capaz de eliminar los radicales superóxido en la célula, de modo que convierte el superóxido (O_2^-) creado por los macrófagos en peróxido (H_2O_2) (Fig. 5), que luego es reducido a agua a través de la hidropéroxido reductasa C (Tp0509) (23)(14).

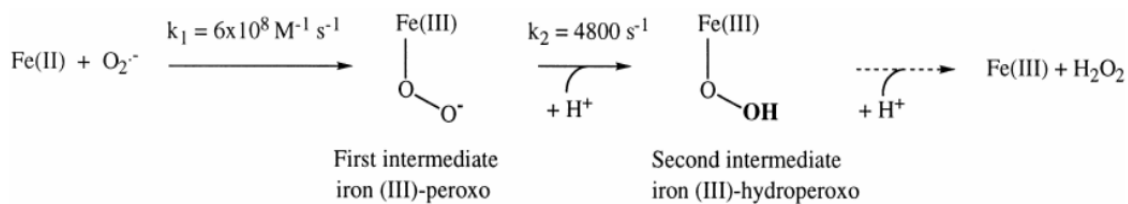


Figura 5: Formación de dos intermediarios durante la reacción llevada a cabo por la SOR de *T. pallidum* (27).

Debido a la escasa capacidad biosintética de esta bacteria, no es sorprendente que tenga un gran repertorio de transportadores para aminoácidos y otras moléculas. Utiliza una gran variedad de transportadores ABC y simportes (5% de su genoma) (9) para obtener las macromoléculas que requiere del organismo humano (23). Recientemente se describió cómo la lipoproteína **TpN32** une el aminoácido azufrado metionina (23)(9). **TpN32** es homóloga a una familia de transportadores de metionina presentes en *E. coli*. De los transportadores de *T. pallidum*, seis de ellos son específicos para cationes. El más estudiado hasta ahora es el ATP-binding cassette (ABC), un transportador codificado por el operón *tro*. Dentro del complejo Tro, TroA (también llamado TROMP1) es una proteína que une cationes, como zinc y manganeso, que pueden ser necesarios para el funcionamiento de las enzimas de la bacteria.

Por otro lado, el transportador MglABC es específico para la galactosa en las bacterias Gram negativas. Sin embargo, en el caso de *T. pallidum*, debido a su inhabilidad para utilizar este azúcar, se ha especulado que usa este transportador como un transportador de glucosa. Se ha visto que su genoma no codifica para ninguna porina u homólogo, por lo que no está claro cómo se mueven los nutrientes desde la membrana externa hasta el espacio periplásmico para luego ser utilizados. Un estudio reciente sugiere que una proteína de la membrana externa (Tp0453) puede estar insertada en esta membrana permitiendo la difusión no selectiva de nutrientes al periplasma (23).

5.1.5 Cultivo

La incapacidad de cultivar *T. pallidum* a largo plazo es un impedimento a la hora de poner de manifiesto los mecanismos moleculares de su patogenicidad. La única forma de obtener microorganismos suficientes para su posterior manipulación experimental es a través de su inoculación en los testículos de los conejos. Estos mamíferos son los animales de elección porque se observan las manifestaciones clínicas de la enfermedad en ellos, siendo parecidas clínica e histológicamente a las observadas en los humanos (23). La capacidad de cultivar y crecer microorganismos “puros” de *T. pallidum in vitro* sería, sin duda, un gran beneficio para diferentes áreas relacionadas con la investigación de esta bacteria: un mejor entendimiento de sus factores de virulencia, la caracterización de los antígenos de su membrana externa, conocer su sensibilidad a antibióticos, la elaboración de una vacuna efectiva o la mejora de preparaciones antigénicas. Además, el uso de los conejos no sería necesario, simplificando procedimientos experimentales (10). A día de hoy se están realizando grandes esfuerzos para conseguir su multiplicación *in vitro* a largo plazo y se han publicado avances recientes. En un experimento realizado por Edmondson y col. en 2018 (11) se demostró la capacidad de cultivar el microorganismo en condiciones muy especiales a través de cambios realizados en la técnica utilizada por Fieldsteel, Cox y Moeckli en 1981. La técnica usada por Fieldsteel y col. consistió en la inoculación de la bacteria con células epiteliales de conejo (Sf1Ep) y la utilización del medio de cultivo llamado TpCM para su crecimiento, que contenía medio mínimo Eagle (MEM), formado por aminoácidos esenciales, sales, glucosa y vitaminas, y aminoácidos no esenciales. Sin embargo, con esta técnica la multiplicación y la supervivencia de los treponemas estaban limitadas a un periodo de tiempo entre 12 y 18 días, no pudiendo cultivarse de forma continua (11).

En el estudio realizado en 2018, se utilizó como cepa de referencia la cepa Nichols de *T. pallidum* obtenida del LCR de un paciente con neurosífilis en 1912. También se usaron dos cepas aisladas en el año 2004 de la sangre de dos pacientes sin tratar (UW231B y UW249B). Cada una de estas cepas fue inoculada en los testículos de conejo para obtener más microorganismos, extraerlos posteriormente y conservarlos congelados a -80 °C para usarlos en estudios posteriores. El medio usado para llevar a cabo el cultivo *in vitro* fue llamado TpCM-2 para reflejar su similitud con el medio descrito por Cox. Se sustituyó el medio mínimo Eagle por un medio de cultivo celular más complejo llamado CMRL 1066, que proporcionó un mayor rendimiento y mejoró la conservación de la motilidad de *T. pallidum*. Comparado con el medio MEM, el medio de cultivo CMRL 1066 contiene más nutrientes, ácidos nucleicos, nucleósidos, coarboxilasa, coenzima A, FAD, NAD, NADP, acetato de sodio, glucuronato de sodio y Tween 80. Además, algunos de los componentes comunes están presentes en diferente concentración. El proceso utilizado consistió en la coincubación de cada una de las cepas citadas de *T. pallidum* con células Sf1Ep en medio TpCM-2 a 34°C en un ambiente

microaerófilo (1.5% O₂, 5% CO₂ y N₂). Bajo estas condiciones se observó que aproximadamente el 90% de los treponemas se adherían a la superficie de las células Sf1Ep y se multiplicaban por fisión binaria. La separación de los microorganismos de las células Sf1Ep se realizó con tripsina y EDTA. La suspensión obtenida se utilizó para la cuantificación a través de microscopía de campo oscuro para posteriormente llevar a cabo el subcultivo en un intervalo de 6 o 7 días. Esto último es un condicionante importante para el crecimiento de los treponemas, ya que evita la escasez de nutrientes y la acumulación de productos tóxicos. De esta forma, se consiguió mantener su crecimiento de forma continua durante al menos 6 meses. Tras este tiempo, se observó que *T. pallidum* conservaba su viabilidad, comprobada mediante la observación de su movilidad, así como su infectividad, comprobada tras su inoculación intradérmica en conejos (11).

Este estudio también demostró que se producía un ligero aumento en el número de microorganismos en presencia únicamente de medio de cultivo TpCM-2 durante los primeros 6 días, si bien el crecimiento era muy superior en presencia de células de conejo, pudiendo así estudiar al microorganismo durante más tiempo. La limitación de esta bacteria para multiplicarse en cultivos axénicos no es probable que se deba a defectos en la replicación de su genoma, ya que se observó que la síntesis de DNA y RNA aumentaba considerablemente bajo estas condiciones. Es probable, por lo tanto, que se deba a una falta de nutrientes como los lípidos, que obtendría de una interacción directa con las células del hospedador. También puede deberse a la acumulación en el medio de compuestos tóxicos, como las especies reactivas de oxígeno (ROS), que las células Sf1Ep *in vitro* (así como las células del hospedador *in vivo*) son capaces de eliminar protegiendo a *T. pallidum* y prolongando su supervivencia. A pesar de esto, se espera que en un futuro pueda conseguirse el desarrollo de cultivos axénicos de *T. pallidum*, ya que el requerimiento de células de tejido de conejo dificulta su estudio y sus usos clínicos.

5.1.6 Otras características importantes del microorganismo

Se trata de un microorganismo bastante frágil, muy sensible a cambios en el medio ambiente que le rodea. Soporta estrechos márgenes de pH (7,2-7,4) y de temperatura (30-37°C). Además, es rápidamente inactivado a través de calor, frío o desinfectantes (26). Es sensible a los antibióticos beta-lactámicos, siendo la penicilina el fármaco de elección para el tratamiento de la infección por esta bacteria (28).

5.2 *TREPONEMA PALLIDUM* Y ACONTECIMIENTOS RELACIONADOS CON SU PATOGENIA

T. pallidum se transmite a través del contacto sexual con personas que presentan lesiones mucocutáneas, de forma congénita a través de la placenta, por transfusión de sangre o por inoculación directa. La vía más frecuente es por transmisión sexual, accediendo al organismo a través de las membranas mucosas y/o a través de pequeñas fisuras o heridas en la piel. Debido a la lenta multiplicación del microorganismo, la enfermedad tiene un periodo de incubación largo, pudiendo aparecer una primera lesión no dolorosa, llamada chancro, en el lugar de entrada aproximadamente 3 semanas después de la infección. Este primer estadio de la enfermedad está acompañado de una linfadenopatía regional indolora y recibe el nombre de **sífilis primaria**. El chancro cura espontáneamente entre 3 y 6 semanas después de su aparición, pero esto no significa que la infección haya cesado. *T. pallidum* se disemina por el organismo humano a través de los vasos linfáticos o/y sanguíneos pudiendo infectar cualquier órgano e invadir incluso el sistema nervioso central (SNC). La **sífilis secundaria o**

diseminada comienza entre 2 y 8 semanas después de la aparición del chancro inicial y las lesiones clínicas mucocutáneas y el exantema que se producen en esta fase son las más reconocidas de la sífilis. El exantema, que puede aparecer en cualquier superficie del cuerpo y la localización en palmas y plantas sugiere el diagnóstico. El condiloma plano es también un síntoma típico. Se trata de pápulas muy infecciosas que aparecen en las zonas intertriginosas y/o membranas mucosas. A esto le puede acompañar otras manifestaciones como una linfadenopatía generalizada, fiebre o dolor de cabeza (29). En esta etapa de la enfermedad, el microorganismo es capaz de sobrevivir en una gran variedad de tejidos y órganos dando lugar a una infección crónica. Su gran capacidad invasiva es demostrada por la presencia de treponemas en el líquido cefalorraquídeo en pacientes con neurosífilis, y por las manifestaciones clínicas que provoca durante el curso de la infección, diseminadas por todo el cuerpo (23). Las lesiones secundarias curan de forma espontánea y si no se diagnostica y se trata la enfermedad el paciente entra en una fase de la enfermedad que no presenta manifestaciones clínicas, llamada **sífilis latente**. A su vez, esta se divide en fase temprana, si la infección tuvo lugar hace menos de un año, y en fase latente tardía, cuando se produjo hace más de un año. En esta fase de latencia, la enfermedad únicamente es diagnosticada a través de pruebas serológicas. Se trata de una enfermedad inflamatoria crónica que puede afectar a cualquier órgano. Por lo tanto, si la enfermedad no es tratada, después de años o incluso décadas después de la infección inicial, aparecen manifestaciones clínicas en el 30% de los pacientes en formas diferentes de la enfermedad dando lugar a la **sífilis terciaria**: goma sífilítica (15% de los pacientes), sífilis cardiovascular (10%) y complicaciones neurológicas dando lugar a la neurosífilis (7%) (30).

5.2.1 Acceso e invasión de endotelios vasculares del hospedador

Como ya se ha mencionado, la bacteria se reproduce localmente en los tejidos subepiteliales en el lugar de inoculación y provoca la aparición, en ocasiones, de un chancro. Posteriormente, se disemina rápidamente, vía linfa y/o sangre, pudiendo alcanzar e invadir cualquier órgano. En estudios *in vitro* se ha visto que *T. pallidum* tiene una gran habilidad para adherirse a la superficie de diferentes células eucariotas y a la matriz extracelular de los tejidos del hospedador. Una demostración de esto se realizó en un experimento en el que se observó la unión de la bacteria a células procedentes del testículo del conejo (NRT) (Fig. 6) y a una línea celular de células epiteliales humanas (HEp-2). Observaciones microscópicas mostraron que los treponemas quedaban anclados a las células sin perder su motilidad (31). Esto incide en la importancia que tiene su capacidad de unión a diferentes células y su movimiento para invadir tejidos más profundos desde la sangre.

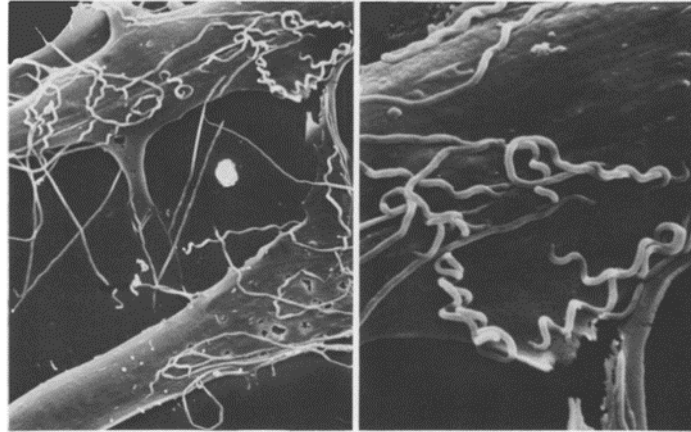


Figura 6: Imágenes obtenidas a través de microscopía electrónica donde se observa una porción de una monocapa de células testiculares de conejo 4 horas después de la infección (31).

Thomas *et al.* (12) pusieron de manifiesto la capacidad invasiva de *T. pallidum* a través de un experimento realizado *in vitro*. Demostraron que *T. pallidum* es capaz de atravesar una monocapa de células endoteliales *in vitro* moviéndose activamente a través de las uniones intercelulares. Se utilizó para ello una suspensión que contenía $5,0 \times 10^8$ treponemas virulentos y otra con la bacteria no patógena *Treponema phagedenis* biotipo Reiter (TpR). Se hizo uso de un sistema en el que células endoteliales de la aorta de conejo (EC) estaban dispuestas de tal forma que creaban una monocapa con uniones estrechas intercelulares (*intercellular tight junctions*) sobre la superficie de un filtro de membrana de policarbonato con un tamaño de poro de $5 \mu\text{m}$. Se observó que los treponemas virulentos eran capaces de atravesar rápidamente esta monocapa en comparación con las TpR (cepa no virulenta).

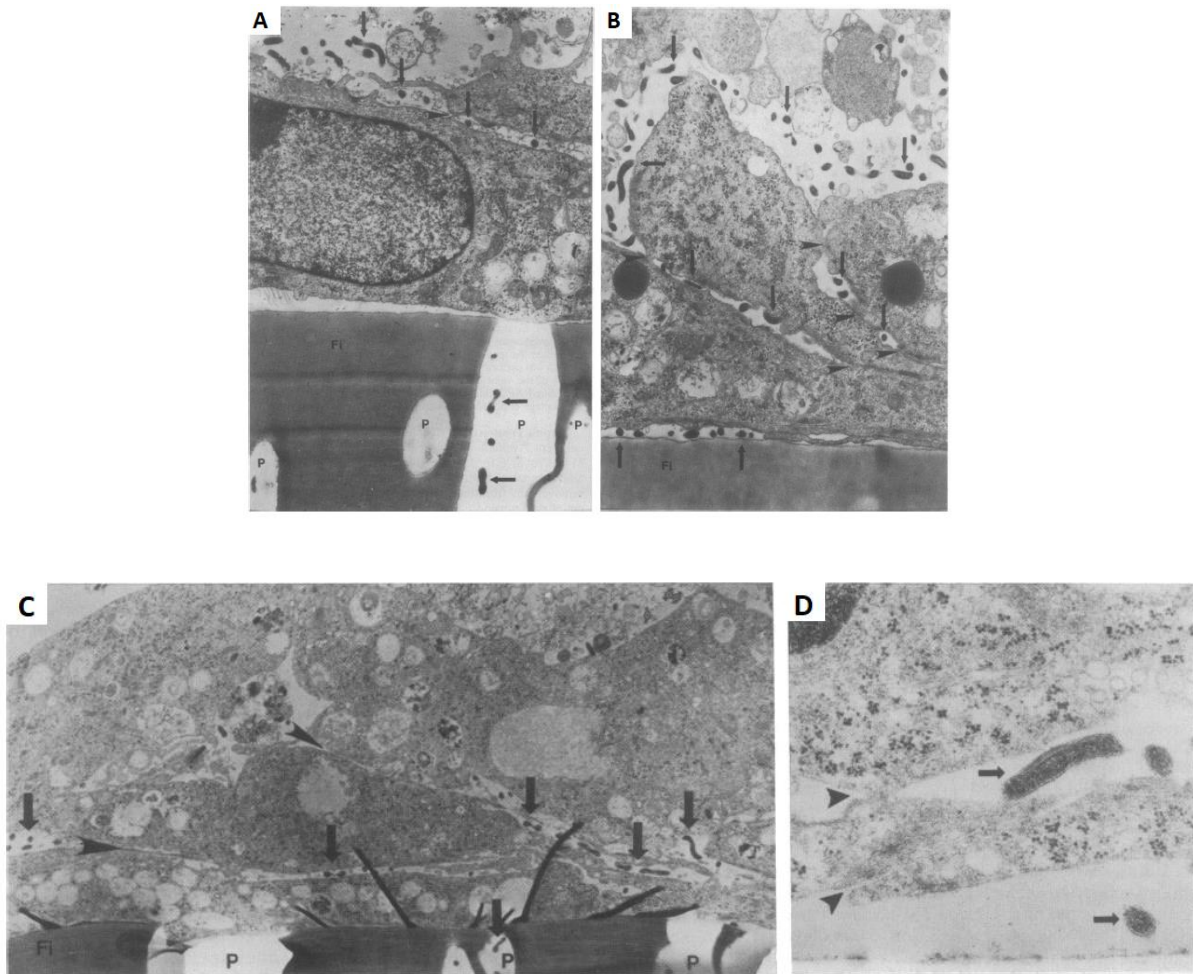
Organism	Time, hr	Barrier	Organisms below filter*	% below filter†
<i>T. pallidum</i>	2	F + EC	1.5×10^7	3.0
TpR	2	F + EC	0	0.0
Heated <i>T. pallidum</i>	2	F + EC	0	0.0
<i>T. pallidum</i>	2	F	2.8×10^7	5.6
TpR	2	F	2.4×10^7	4.8
<i>T. pallidum</i>	4	F + EC	2.7×10^7	5.4
TpR	4	F + EC	3.0×10^6	0.6
Heated <i>T. pallidum</i>	4	F + EC	0	0.0
<i>T. pallidum</i>	4	F	4.0×10^7	8.0
TpR	4	F	3.9×10^7	7.8
<i>T. pallidum</i>	6	F + EC	3.6×10^7	7.2
TpR	6	F + EC	6.0×10^6	1.2
Heated <i>T. pallidum</i>	6	F + EC	0	0.0
<i>T. pallidum</i>	6	F	5.3×10^7	10.6
TpR	6	F	4.8×10^7	9.6

Tabla 1: *los microorganismos fueron cuantificados por microscopía de campo oscuro. (EC)=células endoteliales aórticas de conejo (12).

Como se puede observar en la Tabla 1, tanto *T. pallidum* como TpR son capaces de atravesar el filtro de policarbonato (F) de forma similar en el ensayo en ausencia de la monocapa celular

(control). Sin embargo, cuando se añaden las monocapas de células endoteliales de conejo (EC), se comprueba que *T. pallidum* cruza los filtros más eficientemente que TpR. Después de 6 horas, el 7,2% de *T. pallidum* había atravesado el filtro, mientras que tan solo el 1,2% de las TpR lo había conseguido. De igual modo, no se observó ninguna bacteria de *T. pallidum* tratada previamente por calor al otro lado del filtro, lo cual indica que los microorganismos inactivados no atraviesan el filtro ni son transportados por las células endoteliales. Resultados similares se obtuvieron en ensayos llevados a cabo con células endoteliales humanas.

Lo que fue revelador es que gracias a la microscopía electrónica de transmisión se pudieron observar treponemas entre las células, dando a entender que su forma de penetrar esta monocapa de células era a través de uniones intercelulares, como se observa en las imágenes de la Figura 7. Esto sugiere que así es cómo este microorganismo lleva a cabo la invasión, facilitada por su enérgico movimiento (12). Del mismo modo, a través de experimentos donde bacterias de *T. pallidum* se colocaron en la mucosa de conejo, se observó que estas espiroquetas atravesaban el epitelio y alcanzaban el tejido conectivo. La capa epitelial de la mucosa está formada por células epiteliales formando uniones intercelulares, por lo que es probable que *T. pallidum* atraviese las mucosas e invada tejidos más profundos de esta misma manera (32).



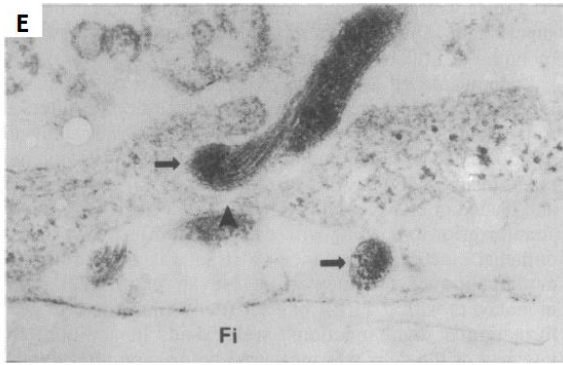


Figura 7: Imágenes obtenidas a través de microscopía electrónica de *T. pallidum* invadiendo las monocapas de células endoteliales de la aorta de conejo (A y B) y de humano (C y D), situadas sobre un filtro de policarbonato (Fi). *T. pallidum* (flechas) invadiendo las uniones intercelulares (cabeza de flecha) y pasando a través del filtro situado debajo. *T. pallidum* situado entre células endoteliales y debajo de ellas (E) (12).

Las bacterias móviles dependen de respuestas quimiotácticas para dirigirse hacia ambientes favorables y mantenerse lejos de los ambientes hostiles. La diseminación de esta bacteria patógena en los tejidos puede estar favorecida por la quimiotaxis. Proteínas transmembrana aceptadoras de grupo metilo (*methyl-accepting chemotaxis transmembrane proteins*, MCPs) median las respuestas quimiotácticas de bacterias Gram negativas. En el caso de *T. pallidum* se han encontrado cuatro genes que codifican MCPs, siendo la glucosa e histidina las moléculas con las que estos receptores pueden tener afinidad (23). Por ejemplo, las proteínas Mcp1 (66 kDa) y Mcp2 (45 kDa) son indispensables para que el microorganismo sea atraído hacia los nódulos linfáticos de las ingles humanas (24). Por lo tanto, quizás se podría afirmar que procesos patogénicos como cruzar la barrera endotelial para llegar al torrente circulatorio probablemente dependan de mecanismos que permiten a *T. pallidum* detectar y responder a gradientes nutricionales (quimiotaxis) (23).

5.2.2 Interacción con plaquetas humanas e importancia de las lipoproteínas de membrana externa en la invasión de tejidos y en la respuesta inflamatoria

En un estudio publicado en 2019 (1) se observó que las espiroquetas causantes de sífilis que interaccionan con las plaquetas de la persona a la que infectan sufren cambios fenotípicos y en sus parámetros cinéticos. Su forma se hace más compacta y la rotación de su filamento axial incrementa, así como la velocidad de su movimiento traslacional. Se compararon parámetros cinéticos entre aquellos treponemas que interaccionaron con las plaquetas y las que no, observándose una diferencia estadísticamente importante en su velocidad y movimiento. Además, se demostró que, como consecuencia de esa interacción, estas espiroquetas son capaces de inducir la activación de las plaquetas.

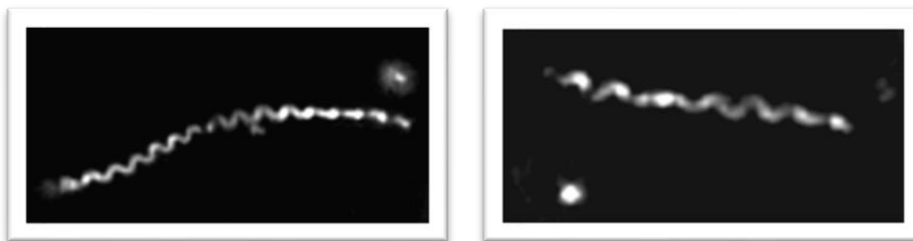


Figura 8: Treponema viable (izquierda) y tratada con calor (derecha) (1).

Para comprobar esto, se comparó a través de citometría de flujo la unión entre treponemas tratadas con calor (no viables) y treponemas viables (Fig. 8) con las plaquetas humanas (Fig. 9). Como se puede observar en las imágenes de la Figura 9, los acontecimientos de unión están representados entre líneas color verde, tanto de treponemas no viables (*heat treated*) como de las que son viables (viable). Comparando ambos resultados, el número de uniones entre las bacterias viables y las plaquetas humanas ($55.13\% \pm 2.91$) es notablemente mayor que el número de uniones entre treponemas tratadas antes con calor y las plaquetas ($19.05\% \pm 2.29$).

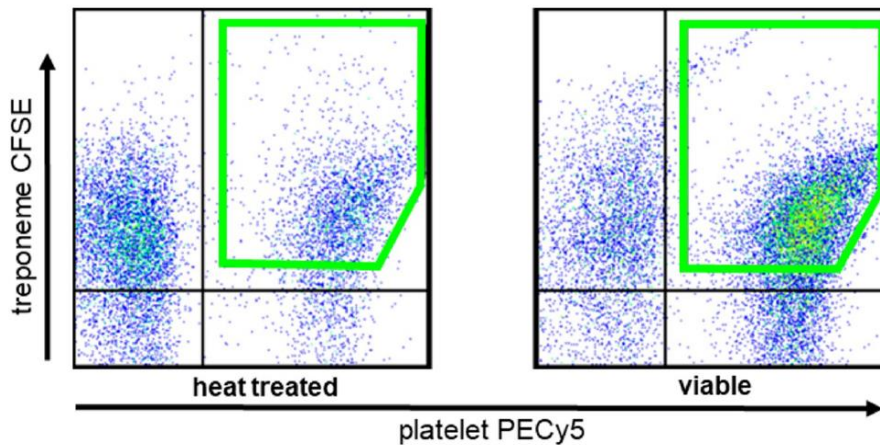


Figura 9: Treponemas tratados por calor y marcados con CFSE mostraron menos uniones con plaquetas humanas marcadas con PE/Cy5 anti-CD4 comparados con los treponemas viables (1).

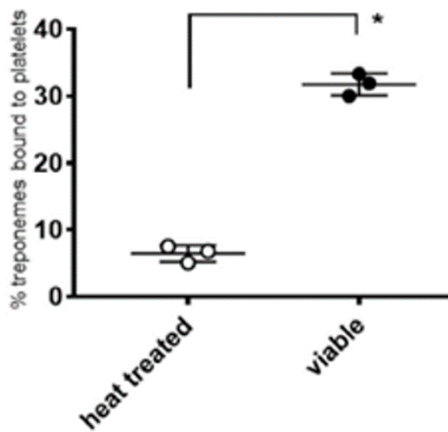


Figura 10: A través de la microscopía de campo oscuro, se demostró que treponemas viables unen más plaquetas humanas ($31,73\% \pm 1,19$) que las tratadas por calor ($6,47\% \pm 1,19$) (1).

Así mismo, se llevaron a cabo análisis microscópicos que consistieron en determinar el porcentaje de treponemas que interaccionaron con las plaquetas. Se observó que treponemas vivos coincubados con plaquetas humanas unían significativamente más plaquetas que aquellos treponemas tratados previamente con calor. Este resultado, junto con el obtenido a través de citometría de flujo, confirman que la interacción *T. pallidum*-plaquetas humanas se correlaciona con la viabilidad de *T. pallidum*.

Por otro lado, se pensó que *T. pallidum* tendría preferencia por las plaquetas activadas. En efecto, después de analizar las imágenes de campo oscuro, la mayoría de las interacciones treponema-plaqueta se daban entre plaquetas totalmente activadas (57,8%), seguidas de un 37,6% entre plaquetas del siguiente estado menos activado. Plaquetas en su estado de activación más temprano interaccionaron con treponemas en un porcentaje de tan solo 4,8%.

La importancia de esto radica en que la interacción entre *T. pallidum* y las plaquetas de la persona a la que infecta contribuye a la patogenia de este microorganismo, en lugar de ayudar a su eliminación durante la infección. Este proceso activo podría contribuir también a la

permanencia de la bacteria en el organismo, ya que las plaquetas activadas se adhieren a las células endoteliales de los vasos sanguíneos a través de la unión de su receptor GP VI con el colágeno (tipo II) (33) permitiendo su retención *in situ* durante varias horas. Debido a que las plaquetas secretan una gran variedad de moléculas, enzimas e iones, esta asociación *T. pallidum*-plaqueta puede proporcionar nutrientes a la bacteria. Por otro lado, ha sido demostrado que el secretoma de las plaquetas activadas facilita la adhesión de estas a las células endoteliales y alteran la permeabilidad vascular. Esto podría facilitar la extravasación y diseminación de *T. pallidum*. Además de aumentar la permeabilidad vascular, las plaquetas también aumentan la permeabilidad de la barrera hematoencefálica a través de la secreción de sCD40L, VEGF, IL-1, CXCL4/PF4 y serotonina. Se ha visto que plaquetas maternas son también incorporadas en el lumen de los vasos sanguíneos durante la formación de la placenta. Por lo tanto, la habilidad de *T. pallidum* para interactuar con las plaquetas puede jugar un papel importante para cruzar la barrera placentaria y la barrera hematoencefálica (1).

Por otro lado, aunque no se conozcan con exactitud los mecanismos utilizados por la bacteria para invadir diferentes tejidos y causar una enfermedad crónica en el organismo, se ha puesto de manifiesto la existencia de moléculas de su membrana externa relacionadas con su capacidad invasiva. Se conocen lipoproteínas de su membrana externa, como **Tp0155** y **Tp0483**, capaces de unir fibronectina, una glicoproteína que se encuentra en la matriz extracelular de la mayoría de los tejidos del organismo humano (18)(22). Por lo tanto, la unión de la bacteria a las células humanas desempeña un papel fundamental en la invasión de los tejidos y órganos desde el lugar de entrada inicial. Así mismo, lipoproteínas de su membrana externa inducen la producción de una matriz-metaloproteinasa-1 (MMP-1) en las células dérmicas. Esta enzima está relacionada con la degradación de diversos tipos de proteínas de la matriz extracelular de las células humanas, como el colágeno, ayudando a *T. pallidum* a penetrar en los tejidos (23). Relacionado con su diseminación desde el sitio de entrada, también hay evidencias de que *T. pallidum* produce una enzima capaz de degradar ácido hialurónico presente en los tejidos. De esta forma, su diseminación sería facilitada (26).

Estas lipoproteínas constituyen, sin duda, un factor de virulencia importante. Además, se ha observado que las lipoproteínas de membrana externa **TpN47** y **TpN17** activan a las células endoteliales y macrófagos, respectivamente. Esto relaciona sus lipoproteínas con su patogénesis, ya que son reconocidas por los receptores tipo Toll de las células del endotelio vascular, macrófagos y células dendríticas, iniciando una respuesta inflamatoria local responsable de las manifestaciones clínicas de la enfermedad (18). En esta línea, relacionada con su patogenia, la lipoproteína de membrana externa **Tp92** induce la producción de quemerina en las células endoteliales activadas. Esto tiene como consecuencia la atracción y unión al endotelio de células que expresan el receptor CMKLR1 (*chemokine like receptor-1*) para esta proteína, como los macrófagos, incentivando así la inflamación local (2).

5.2.3 Actividad proteolítica de la enzima palilisina

Las proteasas bacterianas juegan un papel importante en el proceso de infección. Gracias a la degradación proteolítica de las proteínas del hospedador, facilitan la diseminación bacteriana y la invasión de los tejidos. Se ha visto que afectan a diferentes moléculas, incluyendo componentes de la matriz extracelular de las células, tales como colágeno, elastina, fibrinógeno, fibronectina y laminina. De esta forma, colaboran para que *T. pallidum* sea capaz

de ganar acceso al sistema circulatorio de forma rápida y diseminarse a sitios lejanos desde el sitio de inoculación.

Se identificó la metaloproteasa dependiente de zinc **Tp0751** o palilisina, una adhesina que contribuye en el proceso de infección de *T. pallidum*. Se trata de una lipoproteína que se encuentra en la superficie externa de la bacteria y es capaz de unir diferentes moléculas del hospedador. Degrada diferentes componentes de la matriz extracelular, como laminina y fibrinógeno. La laminina es una glicoproteína abundante en la barrera hematoencefálica y en las capas internas de las células endoteliales de los vasos sanguíneos, barreras que *T. pallidum* atraviesa durante la infección (13). Por lo tanto, hay proteínas de la membrana externa, como Tp0751 (palilisina), que desempeñan un papel fundamental en la patogénesis de la bacteria. Gracias a su interacción con los componentes celulares del hospedador, la espiroqueta puede llevar a cabo la extravasación desde los vasos sanguíneos, la invasión de diferentes tejidos y la diseminación por el organismo.

Por otro lado, se han detectado anticuerpos específicos para esta proteína durante el curso de la infección. Se ha visto que la población de *T. pallidum* que accede al organismo es heterogénea en cuanto a sus componentes de membrana se refiere. Esto divide a los microorganismos en dos subpoblaciones: la que une anticuerpos e incrementa la inflamación local y la que no es reconocida por ellos y se disemina por todo el cuerpo. Un dato curioso es que estudios recientes sugieren que el complejo de proteasas **Tp0750-Tp0751** se expresa en niveles más bajos en la superficie de esta última subpoblación de treponemas. Como consecuencia, evitan su exposición a los anticuerpos y evaden el reconocimiento por el sistema inmune, dando lugar a una infección crónica (9).

5.3 RESPUESTA INMUNE

Como se ha explicado antes, las lipoproteínas presentes, aunque en una cantidad relativamente pequeña, en la membrana externa de *T. pallidum* son capaces de activar células responsables de las manifestaciones clínicas de la respuesta inmune, tales como células endoteliales y macrófagos. Por lo tanto, la inflamación y la respuesta adaptativa del sistema inmune de la persona infectada por *T. pallidum* son las causantes de la destrucción tisular característica de la sífilis. Lipoproteínas procedentes de la membrana citoplasmática también inducen la liberación de citoquinas. Sin embargo, esto ocurre cuando la bacteria ha sido previamente destruida por el macrófago.

En un sistema *in vitro* se observó que *T. pallidum* induce la expresión de TNF- α en los macrófagos, una citoquina capaz de activar un gran número de componentes de la respuesta inmune. Lipoproteínas como **TpN47**, de 47-kDa, activan la expresión de TNF- α , IL-1b, IL-6, IL-8 y IL-12. Así mismo, las lipoproteínas **TpN15**, **TpN17** y **TpN38** inducen también la producción de TNF- α . Las células de Kupffer, también producen TNF- α como respuesta a la estimulación con **TpN47**, **TpN17** y **TpN15** (23). En general, estos hechos parecen indicar que las lipoproteínas de *T. pallidum* son unos potentes inductores de la inflamación durante la fase temprana de la infección por este microorganismo.

En estudios *in vitro* se ha demostrado que la lipoproteína **TpN47** de la bacteria en su forma virulenta provoca que las células endoteliales cultivadas expresen las moléculas de adhesión endoteliales ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina. Sin embargo, estas células no son activadas por los treponemas previamente tratados con calor. Esto podría indicar que la activación de células endoteliales es un proceso específico para las formas patógenas vivas de la bacteria.

Se trataría por ello de un proceso relacionado con la patogénesis, pues las moléculas de adhesión celular liberadas provocan el reclutamiento y la unión de los leucocitos a las células del endotelio vascular, dando lugar a la inflamación característica de la infección (23).

En cuanto a las células dendríticas, al actuar como puente entre la respuesta innata y la adaptativa, presentan antígenos específicos a las células T en los nódulos linfáticos, haciendo que se diferencien y migren al lugar de infección. Los linfocitos T fueron detectados en el lugar de la infección 3 días después de la inoculación intratesticular con *T. pallidum* en conejos. Las células T alcanzaban las concentraciones más altas entre los días 10 y 13, y el número máximo de macrófagos también se observó el día 13, aproximadamente al mismo tiempo que el número de microorganismos alcanzaba su máximo en el tejido testicular. Sin embargo, entre los días 13 y 17 postinfección, el número de *T. pallidum* disminuyó. Macrófagos, plasmocitos y células T, tanto linfocitos CD4+ (células T helper) como CD8+ (células T citolíticas), se pueden encontrar en lesiones dérmicas de los conejos o en los chancros humanos (lesiones primarias) o en lesiones secundarias. Esto conduce a la eliminación del microorganismo localmente por los macrófagos activados. Además, tanto linfocitos CD4+ como CD8+ y las células NK producen IFN- γ , y los linfocitos CD8+ y las células NK producen granzima B y perforina, que pueden ser en parte responsables de la destrucción del tejido típica de las lesiones sifilíticas (23). Por lo tanto, las manifestaciones clínicas primarias y secundarias están relacionadas con la respuesta inmune celular (22).

Respecto a la respuesta humoral, los anticuerpos, tanto la inmunoglobulina G (IgG) como la IgM son inducidos por las lipoproteínas de la membrana externa de *T. pallidum*. Estos anticuerpos opsonizan al microorganismo intensificando la fagocitosis mediada por los macrófagos en el lugar de entrada, lo cual es imprescindible para la destrucción de la bacteria y conlleva la desaparición espontánea de las lesiones. Las proteínas del filamento axial de la bacteria también son reconocidas por anticuerpos. Sin embargo, a pesar de poseer epítomos antigénicos, la inmunización con subunidades flagelares no indujo una protección completa contra la infección por *Treponema pallidum*, probablemente porque el flagelo axial no está expuesto en la superficie del microorganismo (23).

Si bien la respuesta inmune consigue eliminar la mayoría de los treponemas en el lugar de la infección intratesticular, se ha visto que algunos consiguen evitar la ingestión por los macrófagos. Esto sugiere que algunas treponemas son capaces de evitar la unión de anticuerpos opsonizantes, persistiendo durante la respuesta inmune activa. Esto se ha comprobado a través de experimentos de marcaje con anticuerpos. Como se mencionó anteriormente, se conoce la existencia de dos subpoblaciones de treponemas: los que unen anticuerpos y los que evitan la opsonización gracias a la variación antigénica, que se explicará posteriormente. Los primeros son eliminados poco a poco, dando lugar a una inflamación en el lugar por el que el patógeno ha entrado, mientras que los segundos evaden el sistema inmune, se multiplican localmente y se diseminan vía linfa y/o sangre por todo el organismo pudiendo infectar diferentes órganos y tejidos (9)(23).

5.4 EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

Sigue siendo un misterio el entendimiento de los mecanismos exactos que utiliza *Treponema pallidum* para sobrevivir durante años en el hospedador al que infecta pese a la respuesta tanto celular como humoral que este desarrolla (23)(25). A pesar de ello, se han explorado estrategias que podría usar esta bacteria para asegurar su continuidad en el hospedador. Por

ejemplo, se sabe que *T. pallidum* es capaz de penetrar y alcanzar tejidos inmunológicamente privilegiados como el ojo, la placenta o incluso el sistema nervioso central que le permiten sobrevivir a los efectos del sistema inmunológico, multiplicándose muy lentamente aprovechando su metabolismo lento. Así puede pasar de meses a años en el organismo humano (23). Otra hipótesis para escapar del sistema inmune es a través de la variación antigénica. Relacionada con esta última y gracias a la secuenciación de su genoma se identificó una familia de genes de *Treponema pallidum*: los genes *tpr*, que codifican las diferentes proteínas Tpr que pueden estar presentes en su membrana externa (23)(25).

5.4.1 Papel de la membrana externa de *Treponema pallidum*

Anteriormente, la habilidad de *T. pallidum* para desencadenar una infección crónica se atribuía a la presencia de una capa externa formada por proteínas séricas y mucopolisacáridos del hospedador. A día de hoy se sabe que, en realidad, la evasión de la respuesta inmune es debido a la arquitectura molecular de su propia membrana externa (34). La estructura de la membrana externa de *T. pallidum* es objeto de diversos estudios relacionados con la patogénesis y la creación de una vacuna eficaz.

Las superficies externas de las bacterias son normalmente el blanco de la respuesta adaptativa de la persona infectada (23). Sin embargo, la membrana externa de *T. pallidum* contiene muy pocas proteínas transmembranales. Son conocidas como “rare outer membrane proteins” o por el acrónimo TROMP (“treponemal rare outer membrane proteins”). La mayoría de las lipoproteínas de esta bacteria se encuentran ancladas en la membrana citoplasmática de la bacteria (15). Esto significa que la superficie de esta bacteria es muy pobre en antígenos, comparada con otras bacterias Gram-negativas. Sin embargo, hay treponemas que sí son opsonizados y fagocitados en el lugar de entrada, favoreciéndose así la destrucción de la bacteria y dando lugar a la resolución del chancro (34). Por esta razón, es importante conocer la heterogeneidad de los antígenos de la membrana externa de esta bacteria. Esto podría revelar el misterio de cómo puede evadir la respuesta inmune y, por supuesto, facilitar el desarrollo de una posible vacuna efectiva.

5.4.2 Proteínas TprK

Con la secuenciación del genoma de *T. pallidum* cepa Nichols, se identificó una familia de genes polimórficos. Se trata de 12 genes repetidos de *T. pallidum* (*tpr*) que codifican proteínas de la membrana externa de la bacteria, clasificadas como posibles factores de virulencia. Un miembro de la familia de los genes *tpr* es el gen *tprK*. La proteína que es codificada por este gen es el blanco de la respuesta celular y humoral. Sin embargo, hay una gran heterogeneidad en los genes *tprK*, que se encuentra en siete regiones variables (V1-V7), dando lugar a proteínas TprK que difieren en regiones V debido a cambio de bases, inserciones o deleciones en el gen que las codifica. El mecanismo a través del cual las diferentes secuencias de *tprK* son generadas aún no ha sido definido (35) (Fig. 11).

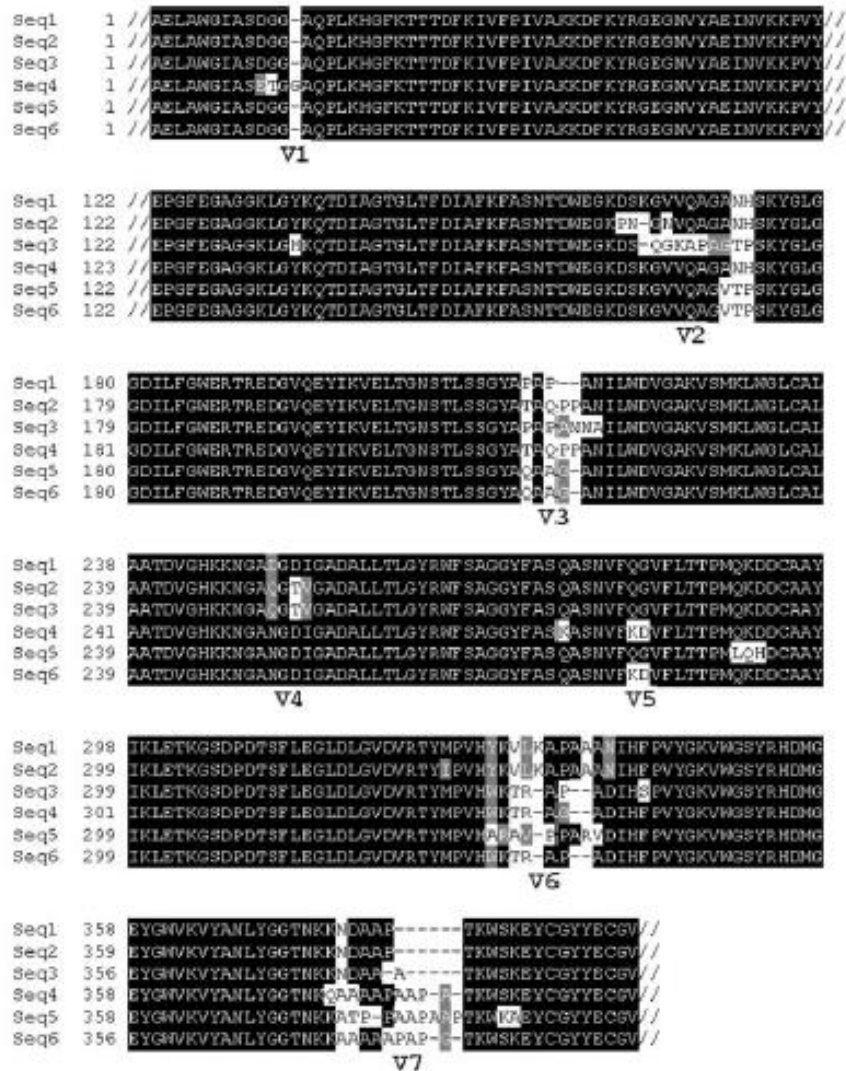


Figura 11: secuencia de aminoácidos de TprK mostrando seis secuencias diferentes procedentes de treponemas de una misma infección. Las regiones conservadas se indican en negro y las regiones variables V se indican de color blanco o gris. Como puede observarse, la región V6 muestra una mayor variabilidad, con las seis secuencias siendo diferentes, comparada con V1, que solo posee 2 secuencias distintas (23).

Por lo tanto, cuando una persona es infectada por esta bacteria, hay diferentes subpoblaciones de treponemas que se diferencian por sus secuencias *tprK*, que codifican para diferentes proteínas TprK (23). Este cambio antigénico juega un papel fundamental en la evasión del sistema inmune, permitiendo la persistencia de *T. pallidum* en el cuerpo humano. Una prueba de ello, fue el descubrimiento de que la variación de TprK en treponemas diseminados en un conejo infectado es mayor que en aquellos encontrados en el sitio de inoculación (34).

Debido a la heterogeneidad de este antígeno TprK, esta proteína presentaría restricciones para el desarrollo de una vacuna (22). En diversos estudios, se ha llevado a cabo la inmunización con moléculas de *T. pallidum*, algunas como **TprK** o **TpN47**. Sin embargo, a pesar de que algunos de los anticuerpos producidos eran opsonizantes, tan solo se produjo una protección parcial. Esto demuestra la importancia de una respuesta inmune celular para la eliminación de la bacteria al comienzo de la infección (23).

6. COMENTARIOS FINALES Y CONCLUSIONES

T. pallidum es un microorganismo con características peculiares. La ausencia de lipopolisacárido y sus escasas proteínas integrales de membrana externa han despertado un gran interés en revelar la arquitectura molecular de esta misma membrana. Continuar con la investigación y la caracterización de sus lipoproteínas de membrana es imprescindible para el desarrollo de una posible vacuna efectiva, que tendría un gran impacto en la salud pública. Para ello, en los últimos años se han logrado avances en su cultivo *in vitro* a largo plazo y se espera conseguir cultivos axénicos de esta espiroqueta. Esto simplificaría el estudio de sus factores de virulencia y pondría de manifiesto los mecanismos patogénicos utilizados por esta bacteria para invadir tejidos profundos. Aún no se conoce con exactitud cómo este microorganismo es capaz de sobrevivir durante años en presencia de una respuesta tanto celular como humoral por parte de la persona a la que infecta. Por lo tanto, elucidar el mecanismo a través del cual *T. pallidum* es capaz de variar la antigenicidad de su membrana externa sería de suma relevancia para poner de manifiesto su capacidad evasiva de las defensas del hospedador. De esta manera, quizás se podría poner fin a la infección crónica que esta bacteria es capaz de establecer en el ser humano, ya que la respuesta inmune que este desarrolla no es capaz de eliminar todos los treponemas en el lugar de infección. Algunos de estos pueden acceder al torrente sanguíneo, diseminarse, multiplicarse e invadir diferentes tejidos y órganos. La capacidad invasiva de *T. pallidum* es tal que puede acceder al sistema nervioso central, hecho que se ha relacionado con demencia, psicosis, manía e incluso epilepsia. Esto incide en la necesidad del diagnóstico temprano de la infección.

La sífilis presenta una gran morbilidad a nivel global. Según datos de la OMS, esta enfermedad afecta a 36 millones de personas del mundo, con alrededor de 12 millones de nuevos casos cada año. Además, padecer esta enfermedad aumenta el riesgo de la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y hay evidencia de que *T. pallidum* facilita la progresión del SIDA. Por otro lado, la sífilis congénita en países en vías de desarrollo, donde escasean los exámenes prenatales y el tratamiento con antibióticos, es un grave problema. Todo esto contribuye a la consideración de la sífilis como una preocupación mundial de gran importancia que necesita ser abordada. Para ello, es necesario continuar con los estudios para el desarrollo de una vacuna e incidir en la importancia de la educación sexual, teniendo en cuenta el aumento en el número de casos en los últimos años. De esta manera, se podría reducir la transmisión de esta enfermedad provocada por una bacteria aun misteriosa a día de hoy.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Church B, Wall E, Webb JR, Cameron CE. Interaction of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete, with human platelets. PLoS One [Internet]. 2019 [citado 31 de marzo de 2020];14(1):e0210902. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210902>
2. Zhang RL, Wang QQ. The *Treponema pallidum* outer membrane protein Tp92 activates endothelial cells via the chemerin/CMKLR1 pathway. Int J Med Microbiol [Internet]. 2020 [citado 2 de abril de 2020]; Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151416>
3. Centro Nacional de Epidemiología. Enfermedades de declaración obligatoria. Casos notificados por comunidades autónomas y tasas por 100.000 habitantes. España 2018. 2019.

4. Repiso B, Frieyro M, Rivas-Ruiz F, De Troya M. Uso de preservativo y número de parejas sexuales en hombres que tienen sexo con hombres con sífilis. *Actas Dermosifiliogr.* 2010;101(10):847-52.
5. Hellín T, Rodríguez-Pichardo A, Ribera E. Enfermedades de transmisión sexual [Internet]. 2nd ed. Bouza E, editor. *Protocolos clínicos SEIMC Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Madrid; 2007 [citado 15 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.seimc.org/documentos-cientificos/infecciones-por-organo-sistema/infecciones-de-transmision-sexual>
6. EcuRed contributors. Espiroqueta [Internet]. 2019. [citado 16 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/index.php?title=Espiroqueta&oldid=3337564>
7. Willcox RR, Guthe T. *Treponema pallidum*. A bibliographical review of the morphology, culture and survival of *T. pallidum* and associated organisms. *Bull World Health Organ.* 1966;35:1-69.
8. Chen X, Zhao M, Qu H. Cellular metabolic network analysis: discovering important reactions in *Treponema pallidum*. *Biomed Res Int.* 2015;2015:1-8.
9. Radolf JD, Deka RK, Anand A, Šmajš D, Norgard M V., Yang XF. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(12):744-59.
10. Fitzgerald T. *In vitro* cultivation of *Treponema pallidum*: a review. *Bull World Health Organ.* 1981;59(5):787-812.
11. Edmondson DG, Hu B, Norris SJ. Long-term *In Vitro* Culture of the Syphilis Spirochete *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. *MBio.* 2018;9(3):153-18.
12. Thomas DD, Navab M, Haake DA, Fogelman AM, Miller JN, Lovett MA. *Treponema pallidum* invades intercellular junctions of endothelial cell monolayers. *Proc Natl Acad Sci.* 1988;85(10):3608-12.
13. Houston S, Hof R, Honeyman L, Hassler J, Cameron CE. Activation and proteolytic activity of the *Treponema pallidum* metalloprotease, pallilysin. *PLoS Pathog.* 2012;8(7):1-17.
14. Jovanović T, Ascenso C, Hazlett KRO, Sikink R, Krebs C, Litwiller R, *et al.* Neelaredoxin, an iron-binding protein from the syphilis spirochete, *Treponema pallidum*, is a superoxide reductase. *J Biol Chem.* 2000;275(37):28439-48.
15. Radolf JD. *Treponema pallidum* and the quest for outer membrane proteins. *Mol Microbiol.* 1995;16(6):1067-73.
16. Camacho Aguilera JF. Las bacterias y sus extraños nombres [Internet]. *Elementos* 92. 2013 [citado 16 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://issuu.com/elementos.digital/docs/elem92>
17. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Espiroquetas y otros microorganismos espirilares. En: Jawetz, Melnick y Adelberg *Microbiología médica.* 26.^a ed. McGraw-Hill; 2014.
18. Norris SJ, Axelsen NH, Bassford PJ, Baughn RE, Hanff PA, Hindersson P, *et al.* Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural,

- functional, and immunologic roles. *Microbiol Rev.* 1993;57(3):750-79.
19. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. 836 p.
 20. Centers for Disease Control and Prevention. Details - Public Health Image Library(PHIL) [Internet]. [citado 4 de junio de 2020]. Disponible en: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=836>
 21. Thompson L. *Syphilis* [Internet]. 2nd ed. Lea & Febiger; 1920. 486 p. [citado 18 de mayo de 2020]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2027/hvd.hc4x8a>
 22. Meléndez-herrada E, Ramírez M, Dorantes BGS, Cravioto A. Estrategias de investigación para el desarrollo de una vacuna contra la sífilis. *Rev Fac Med UNAM.* 2008;51(1):18-23.
 23. LaFond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(1):29-49.
 24. Paz-Burgos L. *Treponema pallidum*: estructura y antigenicidad. *Univerdidad, Cienc y Soc.* 2010;1(2):42-4.
 25. Peeling RW, Hook III EW. The pathogenesis of syphilis: the great mimicker, revisited. *J Pathol.* 2006;208(2):224-32.
 26. Radolf JD. *Treponema*. En: S B, editor. *Medical Microbiology* [Internet]. 4th ed. 1996. [citado 26 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7716/#A2019>
 27. Nivière V, Lombard M, Fontecave M, Houée-Levin C. Pulse radiolysis studies on superoxide reductase from *Treponema pallidum*. *FEBS Lett.* 2001;497(2-3):171-3.
 28. Organization WH. WHO guidelines for the treatment of *Treponema pallidum* (syphilis) [Internet]. 2016 [citado 16 de mayo de 2020]. Disponible en: <http://www.who.int>
 29. López JL, Frasquet J. *Sífilis : una revisión actual*. Madrid: Centro de Control de Calidad SEIMC. 2011.
 30. Arando M, Otero L. Syphilis. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019;37(6):398-404.
 31. Hayes NS, Muse KE, Collier AM, Baseman JB. Parasitism by virulent *Treponema pallidum* of host cell surfaces. *Infect Immun.* 1977;17(1):174-86.
 32. Riviere GR, Thomas DD, Cobb CM. *In vitro* model of *Treponema pallidum* invasiveness. *Infect Immun.* 1989;57(8):2267-71.
 33. Bermejo E. Plaquetas. *Hematología* [Internet]. 2017 [citado 5 de abril de 2020]; 21:10-8. Disponible en: http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol21/extra/06-Vol_21-extra.pdf
 34. Radolf JD, Kumar S. The *Treponema pallidum* outer membrane. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2017;415:1-38.
 35. Centurion-Lara A, LaFond RE, Hevner K, Godornes C, Molini BJ, Van Voorhis WC, *et al.* Gene conversion: a mechanism for generation of heterogeneity in the *tprK* gene of *Treponema pallidum* during infection. *Mol Microbiol.* 2004;52(6):1579-96.