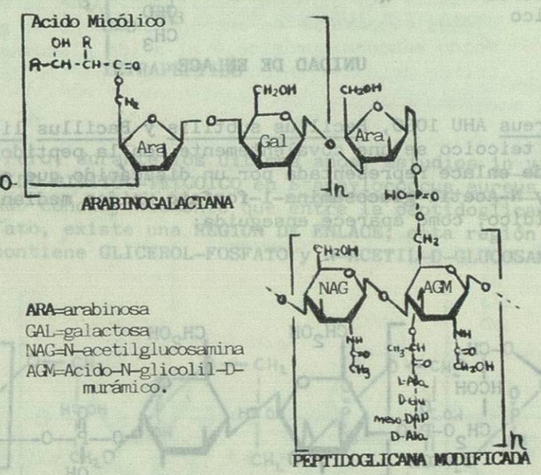
FUNCIONES DE LOS ACIDOS TEICOICOS /ACIDOS TEICURONICOS: Dado su carácter fuertemente polianiónico, estos polímros desempeñan un papel importante en el secuestro de cationes como el magnesio u otros indispensables para la actividad de enzimas ligadas con la membrana plasmática regulando su funcionalidad.
Son antigénicos.
Actuán como receptores para bacteriófagos.
En condiciones de escasez de fosfato, los ácidos teicoicos pueden funcionar como almacén de fosfato proporcionandolo para el crecimiento y sobrevivencia de la bacteria, hasta que en el medio esté disponible un nuevo abastecimiento de fosfato inorgánico.

5.-**PEPTIDOGLICANA MODIFICADA Y ARABINOGALACTANA:** Esta **mureína** peculiar ocurre en micobacterias, nocardias y corynebacterias, donde los residuos de acido murámico presentan sustituyentes glicolilos y no los grupos acetilos usuales en este heteropolímero.

La **Arabinogalactana** es un heteropolisacárido de naturaleza lipídica cuya unidad monomérica es un disacarido formado de **Arabinosa y Galactosa** unidas por un enlace **β** 1 -4 , uno de cada diez residuos de arabinosa se haya esterificado con acidos micólicos en el carbono 5, éstos compuestos son betahidroxiacidos alfa sustituidos de cadena larga. La arabinogalactana se une covalentemente vía un grupo fosfato con la posición 6-OH de las unidades de **acido N-glicolil-D-Muramico** en las cadenas de glicana de la peptidoglicana. Los dos polímeros asociados se muestran en la siguiente figura:



ARA=arabinosa
GAL=galactosa
NAG=N-acetilglucosamina
AGM=Acido-N-glicolil-D-murámico.

Esquema que muestra las interacciones covalentes entre los acidos micólicos la arabinogalactana y la peptidoglicana que ocurren en las paredes celulares de las bacterias acidorresistentes.

COMPOSICION QUIMICA Y ESTRUCTURA DE LA MEMBRANA EXTERNA

La membrana externa de las bacterias gramnegativas está compuesta de proteínas y de una bicapa asimétrica de lípidos, en su cara externa el lipopolisacárido **(LPS)** es el lípido predominante y en la interna son los fosfolípidos. Los fosfolípidos, el lipopolisacárido y las proteinas son los constituyentes principales y se encuentran en una relacion 1:2:2 en peso; los cationes como el magnesio y el antígeno común en enterobacterias son los constituyentes menores.

1.-**EL LIPOPOLISACARIDO (LPS):** Es una macromolécula ácida, anfipática y anfotérica con un peso molecular de 4,500 daltones. Consiste de tres regiones estructural y funcionalmente distintas que son **el Antigeno O, el Core y el Lipido A**, unidas covalentemente entre sí.

El **Antigeno O y el Core** constituyen la porción **hidrofílica**, ambos de naturaleza polisacárida. La región **hidrofóbica** radica en el **lipido A.**

ANTIGENO "O"	CORE	LIPIDO A
región hidrofílica		región hidrofóbica

La distribucion del **LPS** en la membrana externa es **asimét rica**, se localiza solo en la cara externa, y dado que su carga neta es negativa, la superficie celular tiene una fuerte carga eléctrica del mismo signo.

La coexistencia de aproximadamente 34,000 moleculas de **LPS** en la membrana externa es permitida por el establecimiento de interacciones hidrofóbicas entre su lipido A y proteínas vecinas, así como por la asociación electrostática con cationes divalentes como el magnesio que neutralizan la carga negativa, favoreciendo el agrupamiento estable de lipopolisacáridos.

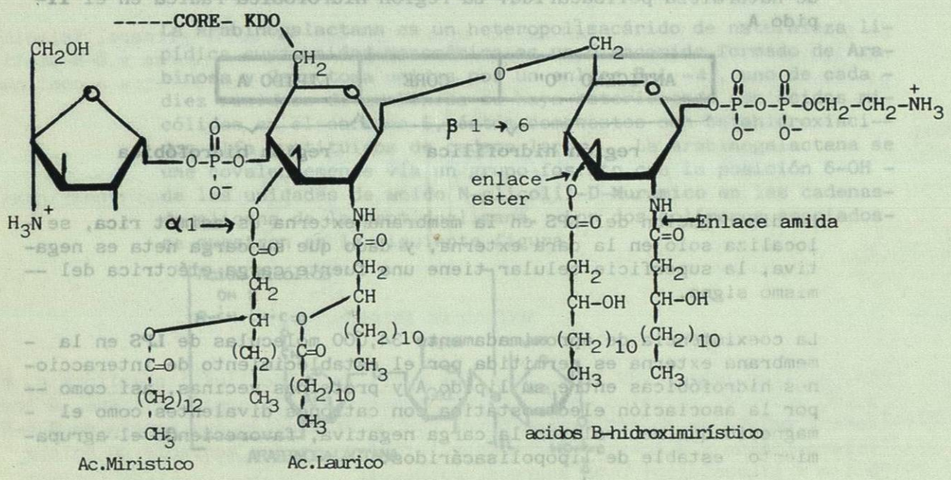
La naturaleza eléctrica del LPS y su presencia en la membrana externa protegen al microorganismo contra diversos factores del huésped como la lisozima, sales biliares, detergentes y enzimas digestivas. Constituye una barrera de permeabilidad que evita el paso de antibióticos hidrofóbicos efectivos contra grampositivos. El LPS confiere estabilidad a la membrana externa y favorece la asociación celular durante la conjugación.

El lipopolisacárido presenta además una ampla gama de actividades biológicas como son el fenomeno de Schartzman local y generalizado, la disminucion de la presión sanguínea, inducción y efecto adyuvante de la respuesta inmune, pirogenicidad y actividad necrótica tumoral, que pueden considerarse beneficiosos para el huésped.

A continuación estudiaremos detalladamente los componentes de esta molécula.

a)**LIPIDO A:** Es la región más interna del LPS, es un oligosacárido acídico, acilado, con propiedades lipidicas. Está formado de **α-L-4 amino-Arabinosa y un dimero de B-D-glucosamina** unidas por un enlace - **β** 1 → 6. El extremo reductor del disacárido se asocia covalente con una molécula de **etanolamina** mediante un grupo **pirofosfato**, y el no reductor se asocia con la **α-L-4 amino-Arabinosa** a través - de un grupo fosfato.

Los grupos **amino e hidroxilo** de las **glucosaminas** se encuentran - sustituidos con **6 - 7 acidos grasos saturados (laurico, miristico) ó 3-hidroxiácidos (Beta-hidroximiristico)**. Estos se unen por enlaces amida con los grupos amino y por enlaces éster con los - grupos hidroxilos. El grupo hidroxilo del C6 en la glucosamina - del extremo no reductor es el punto de unión con el KDO del CORE. Usualmente al grupo hidroxilo del C3 en los beta-hidroxiácidos - se les unen acidos grasos por enlace éster.



ESTRUCTURA DEL LIPIDO A DEL LPS DE Salmonella typhimurium

El lipido A sirve para anclar el LPS a la membrana externa , y es donde reside el principio endotóxico del LPS. Esta actividad la confieren los ácidos grasos, pues su remoción disminuye considerablemente esta característica. Los acidos grasos son los responsables de las propiedades hidrofóbicas del lipido A.

Los grupos fosfatos de esta región del LPS le permiten unir cationes y mantener un medio iónico apropiado similar a la acción efectuada por los acidos teicoicos en las bacterias grampostivas.

b)**C O R E** : Es un heteropolisacárido acídico, cargado negativamente. Posee dos subregiones:

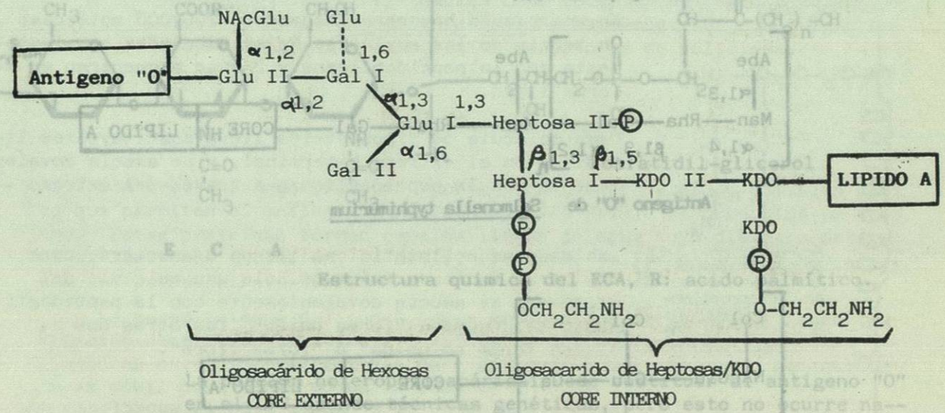
A)**Oligosacárido de Heptosas y KDO ó CORE INTERNO**, constituido por azucares ácidos cargados negativamente como el **KDO** (acido 3-ceto-2-desoxi-octulónico); **HEPTOSA** (L-glicero-D-manoheptosa) a los cuales se les unen -- moléculas de **etanolamina** a través de uno ó dos residuos **fosfato**. Esta porción proximal de la cadena polisacárida del LPS tiene un gran número de grupos cargados negativamente lo que ocasionaría una fuerte repulsión electtrostática entre las moléculas de LPS, pero los contraiones que se asocian juegan un papel crucial en la organización de la monocapa externa de LPS.

B)**Oligosacarido de HEXOSAS ó CORE EXTERNO:** Está constituído por azucares neutros como la **glucosa, galactosa y N-acetilglucosamina**

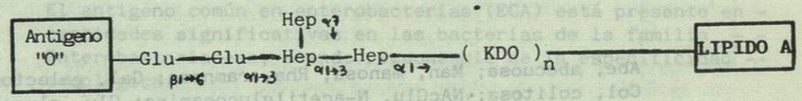
La unión con el Lipido A se hace a traves de los residuos de - **KDO** mediante enlaces cetosídicos.

El **core** es común en todas las Salmonelas.

A continuación presentamos los cores de algunas bacterias.



Estructura del core de Salmonella typhimurium



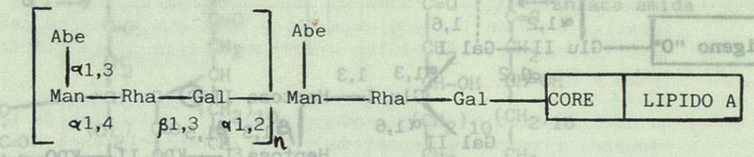
Core de Erwinia carotovora

c) **ANTIGENO "O"**: Es un heteropolisacárido neutro, de naturaleza hidrofílica, consiste de hasta 30 unidades repetitivas, cada una de ellas conteniendo de 3 a 6 monosacáridos; la longitud de la cadena es diversa aún en un cultivo de una cepa, y tiene una conformación helicoidal.

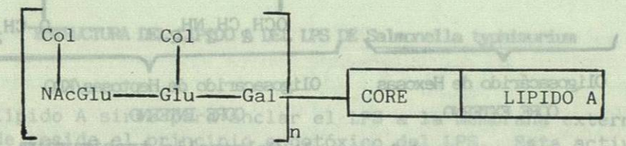
El antigeno "O" ó tambien llamado **cadena de polisacarido "O" especifica**, es la **porción variable** del **LPS**, y las cepas serologicamente distintas, difieren en la composición química y estructura del antigeno "O".

Algunas cepas de E. coli como la B, C y K12 poseen LPS carentes de antígeno "O", y se distinguen porque en agar forman colonias rugosas.

Entre los monosacáridos que integran la unidad repetitiva del antigeno "O" se encuentran **azucares neutros** como la manosa, fructosa, galactosa,glucosa, glicerol, **aminoazúcares** como la 4-amino-arabinosa de E.coli y S. typhimurium, N-acetil glucosamina en E. coli, 4 amino, 4,6 didesoxi-D-Manosa de Vibrio cholerae: **acidos urónicos** como el ácido glucurónico de Salmonella boydii y E.coli; acido galacturónico en Xanthomonas y el acido galactosaminurónico de Citrobacter intermedium; **desoxiazucares** como la abecuosa, colitosa, tivelosa, ascarilosa y paratosa.

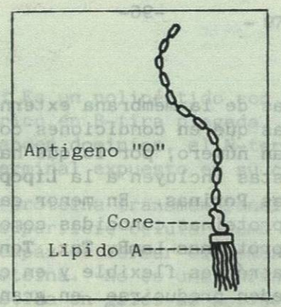


Antigeno "O" de Salmonella typhimurium



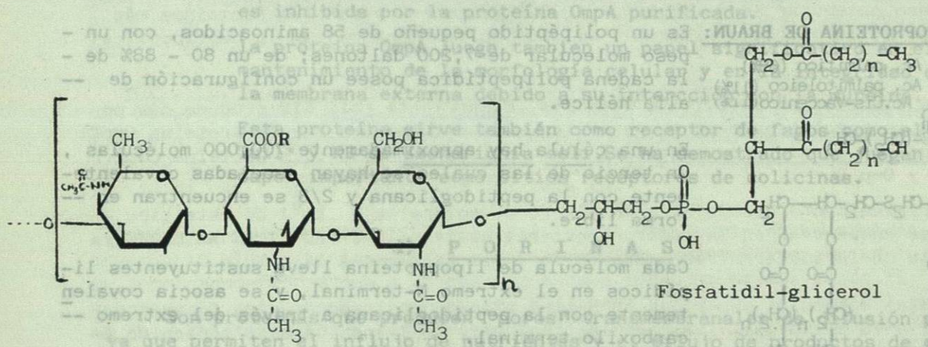
Antigeno "O" de E.coli

Abe, abecuosa; Man, manosa; Rha, ramnosa; Gal, galactosa; Col, colitosa; NAcGlu, N-acetilglucosamina; Glu, glucosa



Representacion del LPS

2) **ANTIGENO COMUN EN ENTEROBACTERIAS (ECA)**: Es un heteropolisacárido acídico, cargado negativamene. La porción hidrofílica de esta molécula anfipática es una **cadena de aminoazúcares** parcialmente esterificada con **acido palmítico**. La unidad repetitiva del polímero contiene **N-acetilglucosamina (NAG), acido N-acetil-manosaminurónico (NAMAU)** y **4 N-acetil-fucosa (4-acetamido, 4,6 didesoxi-D-galactosa)**. La porción hidrofóbica de la molecula es una unidad de **fosfatidilglicerol**, la cual le permite anclarse a la membrana externa.



E C A

Estructura quimica del ECA, R: acido palmítico.

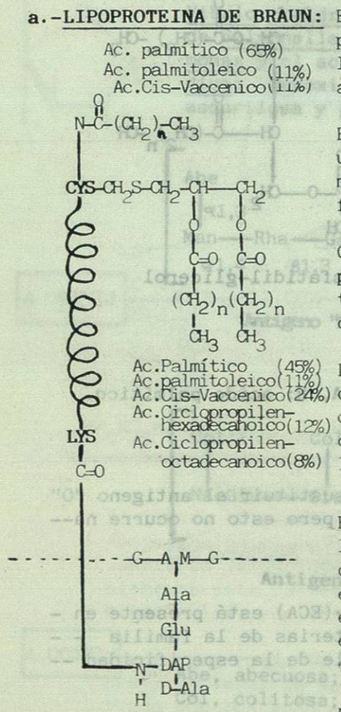
La porción heteropolisacárida puede sustituir al antigeno "O" en el LPS usando técnicas genéticas, pero esto no ocurre naturalmente.

El antigeno común en enterobacterias (ECA) está presente en cantidades significativas en las bacterias de la familia Enterobacteriaceae, siendo responsable de la especificidad serológica.

3) **PROTEINAS:** El patrón de proteínas de la membrana externa es dominado por -- unas cuantas proteínas que en condiciones constitutivas se encuentran presentes en gran número, por lo que han sido designadas co- **PROTEINAS MAYORES**, estas incluyen a la **Lipoproteina de Braun,** - **La Proteina OmpA** y las **Porinas.** En menor cantidad se encuentran- un grupo de 10 - 12 proteinas conocidas como **PROTEINAS MENORES,** - éstas incluyen a **las proteinas LamB, Tsx, TonA, Fep A, BtuB** y la - **fosfolipasa.** Este patrón es flexible y en consecuencia, las -- proteínas menores pueden producirse en grandes cantidades cuando la célula se hace crecer en diversas condiciones como son en presencia de maltosa, limitación de fosfato ú otros nutrientes ó - en presencia de información genética adicional. Estas proteínas - intervienen en la difusión transmembranal de solutos de alto peso molecular , actuan como receptores de fagos y colicinas, se les - relaciona con la replicación del DNA y en la división celular.

PROTEINAS MAYORES

a.-**LIPOPROTEINA DE BRAUN:** Es un polipéptido pequeño de 58 aminoacidos, con un - peso molecular de 7,200 daltones; de un 80 - 88% de - la cadena polipeptídica posee un configuración de -- alfa hélice.



En una célula hay aproximadamente 700,000 moléculas , un tercio de las cuales se hayan asociadas covalentemente con la peptidoglicana y 2/3 se encuentran en -- forma libre.

Cada molécula de lipoproteina lleva sustituyentes lipídicos en el extremo N-terminal, y se asocia covalentemente con la peptidoglicana a través del extremo -- carboxilo terminal.

Las cadenas polipeptídicas tienen a asociarse unas -- con otras formando **trímeros.** Solo una molécula del - oligómero se asocia covalentemente con la peptidoglicana, se denomina **"forma unida"**, las otras dos se -- llaman **forma no unida" ó "forma libre".**

Esta proteína no está expuesta en la superficie celular sino que se encuentra anclada en la cara interna- de la membrana externa. Su función es estructural, - estabilizando la arquitectura del complejo membrana - externa-peptidoglicana dado su unión covalente con -- esa macromolécula. Sin embargo, no es escencial para- el crecimiento; las mutantes que carecen de ella muestran una estructura inestable de la pared con multi-- ples evaginaciones de la membrana externa y liberación de enzimas periplásmicas, pero no se observan defectos notables en el crecimiento o en la morfología celular.

b) **PROTEINA Omp A:** Es un polipéptido con un peso molecular de 35,159 daltones rico en B-tira plegada. En la membrana externa muestra- dos grandes dominios, el N-terminal insertado en la bicapa y - el C-terminal expuesto en su cara interna.

Es una proteína transmembranal que se encuentra expuesta tanto en la superficie celular como en el espacio periplásmico, pero no es capaz de formar oligómeros, aunque si se asocia con la - lipoproteina. No es una porina, y dado que su movilidad electroforética en geles de poliacrilamida disminuye cuando la temperatura de solubilización se incrementa a 100°C, ha motivado- que los investigadores le llaman **"Proteina modificable por el- calor".**

Esta proteína se asocia con la capa de peptidoglicana subyacente pero de una manera no covalente.

Se le ha relacionado con la conjugación bacteriana, puesto que estabiliza la pareja conjugativa. las mutantes que carecen de proteína OmpA son deficientes en conjugación mediada por el - pili F; asimismo se ha observado que la conjugación bacteriana es inhibida por la proteína OmpA purificada.

la proteina OmpA juega tambien un papel significativo en el -- mantenimiento de la morfología celular y en la integridad de - la membrana externa debido a su intercción con la mureína.

Esta proteína sirve también como receptor de fagos como el -- Tuli* y K3 de Escherichia coli. Se ha demostrado que juegan un- papel importante como sitios receptores de colicinas.

d) P O R I N A S

Son proteinas que producen "poros" transmembranales de difusión pasiva que permiten el influjo de nutrientes y el eflujo de productos de desecho. Estas proteínas forman canales llenos de agua cuyo diámetro determina el límite de exclusión, es decir, el tamaño de las moléculas hidrofílicas que pueden atravezarlos.

La pared interna del canal posee aminoácidos cargados cuyo número y- posición determinan la selectividad iónica del poro, por lo que estas --- aberturas pueden ser selectivas para cationes o aniones, pero generalmente es débil para iones pequeños como el K^+ o Cl^-.

Las subunidades que constituyen las porinas examinadas hasta ahora - poseen pesos moleculares que oscilan entre 28,000 y 48,000 daltones, y -- tienen la capacidad de asociarse usualmente en grupos de tres; estos - oligomeros mantienen una asociación no covalente fuerte con la peptidoglicana y las moléculas de lipopolisacárido.

Hasta la primera mitad de 1987 han sido identificadas y caracterizadas 44 porinas de 32 especies pertenecientes al 25% de las familias de -- bacterias gramnegativas, para algunas de las cuales proporcionaremos in-- formación enseguida.