

Gipumi Torres Abe, Elizabeth Cisneros Lozano y Víctor M. Ayala García



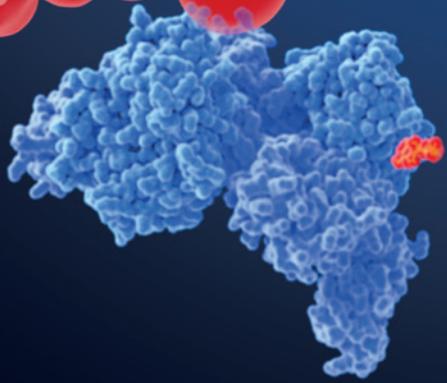
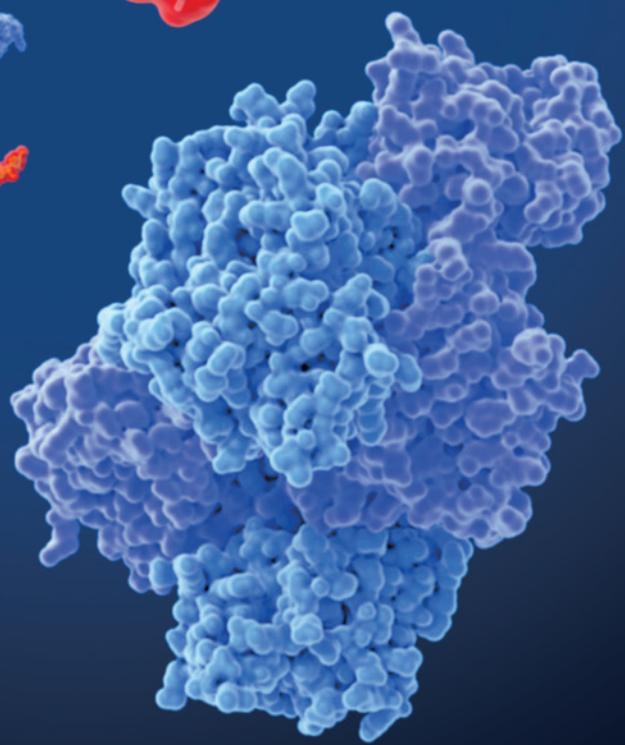
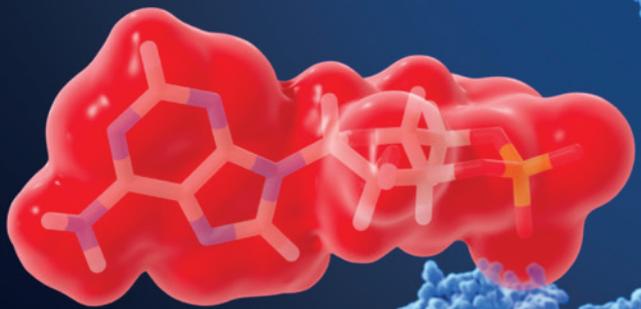
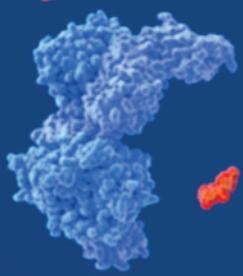
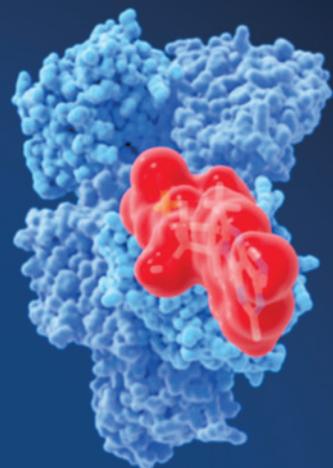
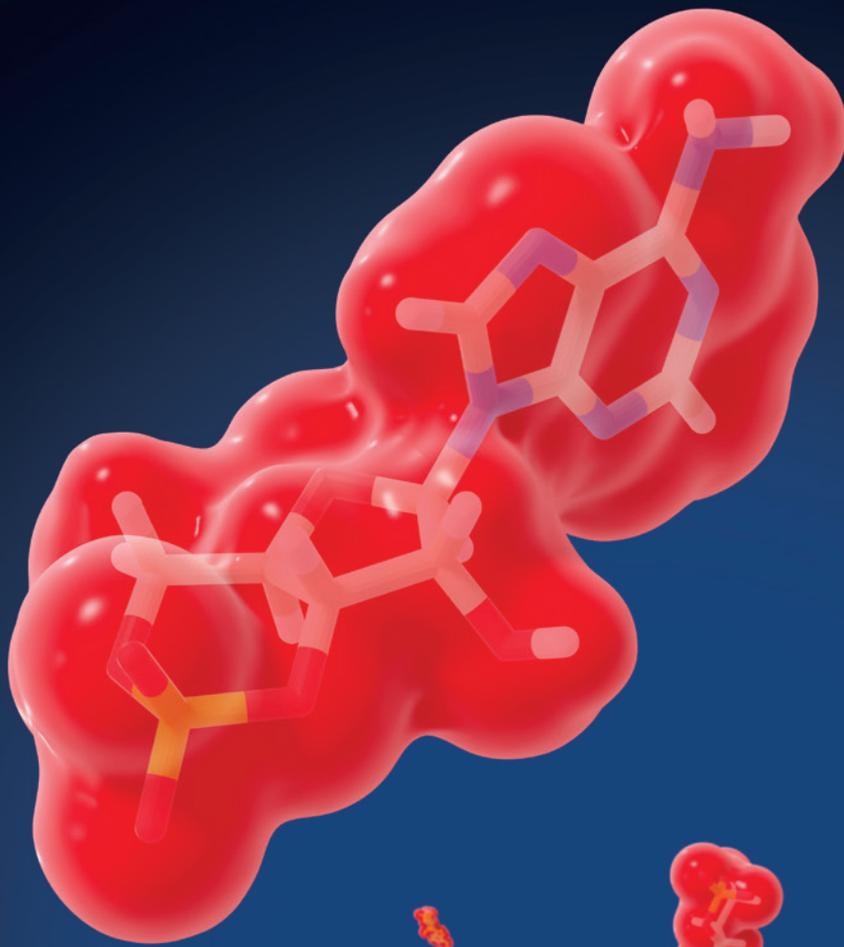
Captemos la señal: importancia de un nuevo segundo mensajero bacteriano

Recientemente se descubrió en algunas bacterias un segundo mensajero dinucleotídico esencial que participa en la regulación de varias vías metabólicas ante cambios ambientales detectados por las células. Esta molécula (c-di-AMP) es importante para la comunicación y homeostasis celular, reparación del ADN, resistencia a antibióticos, entre otras actividades con potencial de aplicación biotecnológica.

Introducción

Hoy más que nunca, la comunicación es vital en cualquier ámbito de nuestras vidas, pero no sólo entre nuestra especie, sino en cualquier organismo vivo, por muy “simple” que parezca. Las bacterias son microorganismos que a lo largo de la evolución han desarrollado mecanismos para sobrevivir ante los cambios del entorno que constituyen un peligro para ellas. Varias vías de señalización pueden verse como una forma de comunicación celular entre moléculas químicas llamadas segundos mensajeros, los cuales sirven como señales que, al unirse a moléculas específicas, generan una serie de cambios al interior de las células y les permiten activar una respuesta.

El adenosín monofosfato dicíclico, o c-di-AMP, es un segundo mensajero de naturaleza nucleotídica, constituido con el mismo material con el que funcionan los bloques para la construcción de moléculas de ADN, y el cual fue descrito recientemente como esencial en las bacterias que lo producen, pues si por alguna razón no está presente, las bacterias no sobreviven. Varias funciones dentro de las células bacterianas se han asociado para ser dependientes de esta pequeña molécula, tanto en bacterias patógenas como no patógenas, así como en organismos vecinos cercanos (incluso no bacterianos o multicelulares) pertenecientes al mismo hábitat, lo cual abre un gran abanico de posibilidades biotecnológicas para atacar problemas actuales de salud, ambiente y alimentación.



■ **Segundos mensajeros**

■ Para reconocer los cambios, o primeros mensajeros, en el entorno (como la temperatura, nutrientes, pH, salinidad, etc.) que pueden poner en peligro su supervivencia, todos los organismos dependen de mecanismos que les permiten captar las señales del exterior, transferirlas y desarrollar una respuesta adecuada. Esto se conoce como vías de transducción de señales. Para la transferencia de las señales, muchas células usan a los llamados segundos mensajeros, que son pequeñas moléculas que pueden difundirse fácilmente dentro de la célula o entre las células. En las bacterias, diversas moléculas nucleotídicas que no están presentes en el ADN o el ARN (las principales moléculas que sirven para almacenar y expresar la información genética) a menudo sirven como segundos mensajeros.

Los segundos mensajeros inician la señal de transducción al unirse a un receptor celular específico. Esta unión provoca que el receptor altere su conformación o función, y se produce como consecuencia un cambio dentro de la célula u organismo (véase la Figura 1). Su

Dominio
Unidad modular de una proteína capaz de realizar una función bioquímica definida.

sistema de señalización incluye mecanismos que generan o sintetizan, degradan y retransmiten las señales.

■ **El c-di-AMP**

■ El segundo mensajero adenosín monofosfato dicíclico, o c-di-AMP (véase la Figura 2), se descubrió inicialmente durante un estudio estructural en la bacteria *Thermotoga maritima* (un microorganismo que es capaz de resistir altas temperaturas) mientras se caracterizaba una proteína que “escanea” o supervisa la integridad del ADN, conocida como DisA. El c-di-AMP es sintetizado por enzimas llamadas ciclasas, las cuales propician la formación de una sola molécula de c-di-AMP a partir de dos moléculas de ATP o ADP. El resultado es un dinucleótido cíclico (es decir, de forma circularizada) que hasta el momento tiene cuatro clases conocidas de ciclasas, las cuales portan el **dominio** de di adenilato ciclasa (dominio llamado DAC), único conocido en la naturaleza capaz de sintetizar c-di-AMP.

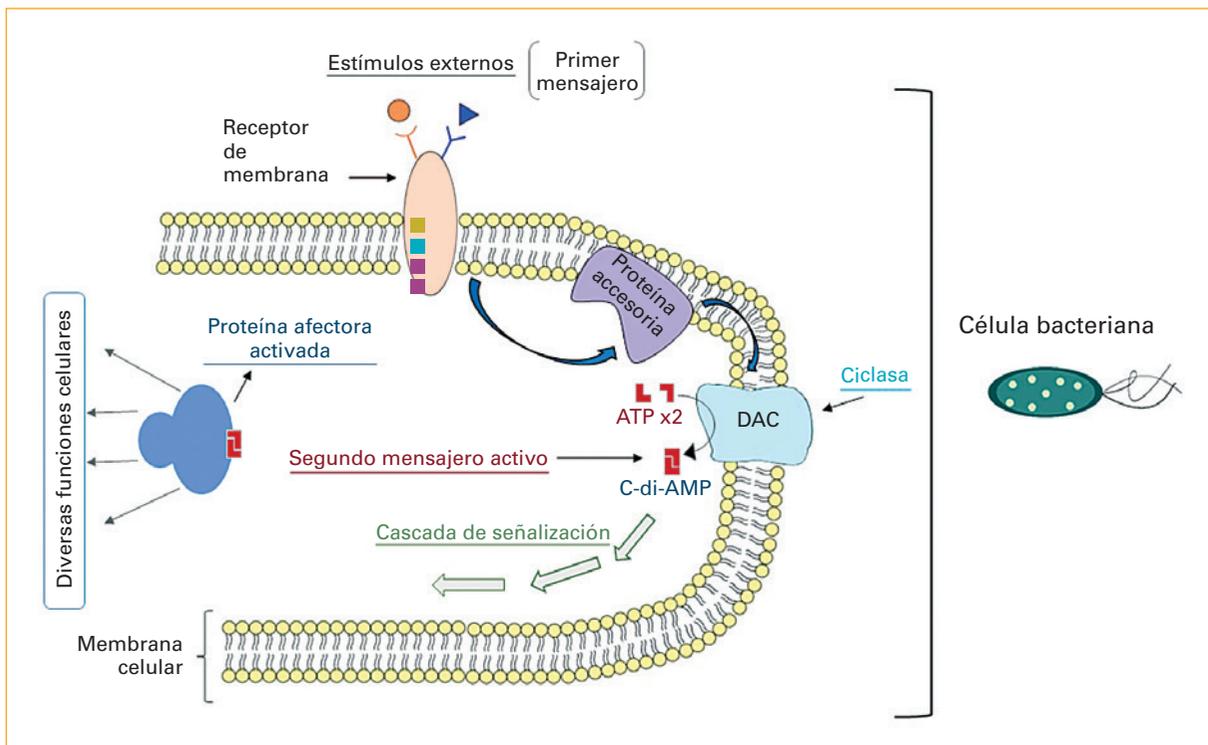


Figura 1. Esquematación de la comunicación celular bacteriana por el segundo mensajero dinucleotídico c-di-AMP. A partir de la captación de estímulos ambientales externos, una vía de señalización es iniciada hasta activar la síntesis de c-di-AMP por medio de una proteína ciclasa (DAC); esto despierta una cascada de señalización en la que c-di-AMP puede unirse a diversas proteínas efectoras y generar como respuesta la activación de variadas funciones en las células bacterianas.

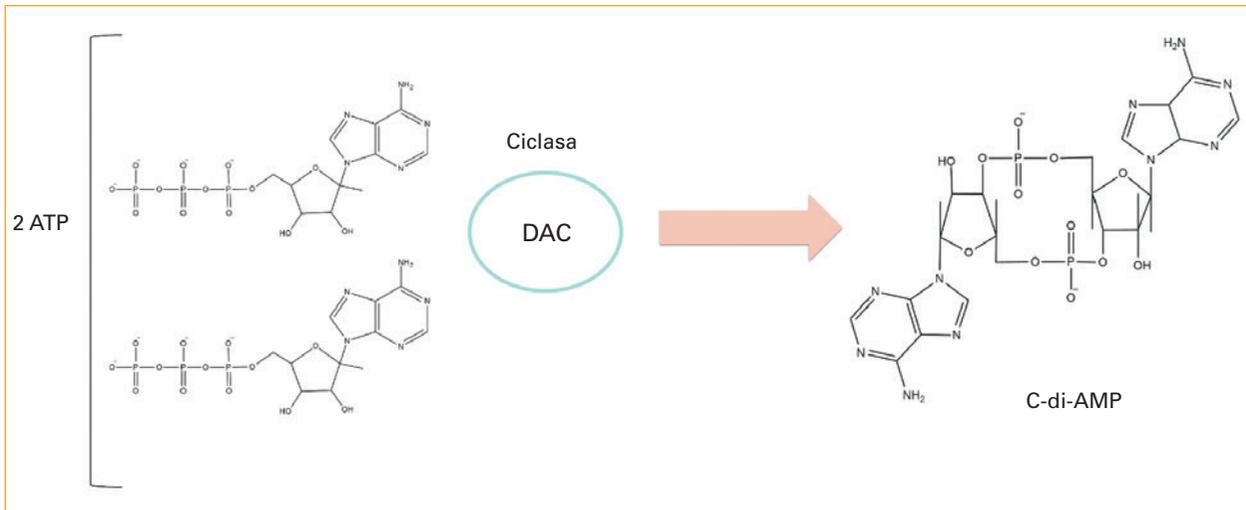


Figura 2. Síntesis y estructura del segundo mensajero: a partir de dos moléculas de ATP, una proteína ciclasa, a través de su dominio DAC, sintetiza una molécula de adenosín monofosfato dicíclico (c-di-AMP).

■ Importancia de la esencialidad del c-di-AMP

■ El c-di-AMP está distribuido ampliamente entre las bacterias y también en algunas arqueas, que son microorganismos unicelulares diferenciados de las bacterias. Éste es el único segundo mensajero que se ha descrito como esencial para muchas bacterias que lo producen; entre ellas, la bacteria de importancia biotecnológica *Bacillus subtilis* y los patógenos de humanos como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*. Cabe señalar que el término *esencial* se utiliza para genes o funciones que son absolutamente necesarias en condiciones naturales, y que estos genes o funciones pueden volverse prescindibles en diferentes condiciones de crecimiento.

El segundo mensajero c-di-AMP es de vital importancia para el crecimiento en varias especies bacterianas, ya que muchas funciones celulares básicas están reguladas por dicha molécula, incluido el mantenimiento de la pared celular, la **homeostasis** del ion potasio, la reparación del daño al ADN, entre otras. Tales procesos denotan que el c-di-AMP es fundamental para el correcto funcionamiento celular. De hecho, diversos estudios han revelado que las alteraciones en la concentración celular de c-di-AMP producidas al hacer cambios en los genes que codifican para su síntesis, de alguna u otra manera, afectan la integridad de la pared celular que protege

a las bacterias. Por ejemplo, una reducción severa de la concentración celular de c-di-AMP provoca el rompimiento de la membrana celular de *L. monocytogenes* y *B. subtilis*.

Además, las bacterias que producen cantidades reducidas de c-di-AMP se vuelven susceptibles a antibióticos cuya forma de acción va dirigida hacia la degradación de la pared celular, como la cefuroxima, la metilicina y oxacilina. Por el contrario, el aumento en el contenido de c-di-AMP dentro de la célula también plantea problemas para la bacteria, ya que se ha visto que altas concentraciones de esta molécula resultan tóxicas y generan desequilibrios metabólicos que llevan a la muerte celular; por esta razón, se dice que este segundo mensajero funciona como un “veneno esencial”, pues, al mismo tiempo que es necesario, un desequilibrio en sus cantidades óptimas para el funcionamiento celular puede resultar letal.

■ Participación del c-di-AMP en procesos celulares bacterianos

■ DisA, además de ser una de las cuatro enzimas que catalizan la síntesis de c-di-AMP, también es una proteína que regula de manera directa los mecanismos de reparación del ADN en respuesta al daño que éste presente. DisA es particularmente frecuente en

◀ Homeostasis

Conjunto de fenómenos que pueden autorregularse como una respuesta de adaptación a estímulos externos.

bacterias Gram positivas formadoras de esporas, las cuales son estructuras de resistencia que se producen en respuesta a condiciones ambientales y nutricionales adversas, como en el caso de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Por ejemplo, durante la esporulación en *B. subtilis*, DisA “escanea” el ADN y, si encuentra lesiones, detiene la producción de c-di-AMP, lo que resulta en una entrada tardía en la esporulación; pero después de reparar el daño en el ADN, la síntesis de c-di-AMP se reinicia, lo cual sirve como una señal para que la vía de esporulación se reactive.

Otra proteína conocida como CdaA, o algunas veces referida como DacA, es una de las enzimas que sintetiza a c-di-AMP y se encuentra en una amplia variedad de bacterias, incluidos patógenos humanos como *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* y *L. monocytogenes*. Se ha demostrado que el c-di-AMP producido por CdaA está involucrado en el mantenimiento de la homeostasis de la pared celular y en el control de la actividad del canal de iones de potasio, que son actividades primordiales para la salud celular bacteriana. En *B. subtilis*, CdaA interactúa físicamente con otra proteína llamada GlmM, que cataliza un primer paso en la producción de una molécula llamada UDP-N-acetil glucosamina (un bloque de construcción de la pared celular). Es probable que esta interacción vincule la homeostasis de la pared celular con la actividad de CdaA y, por lo tanto, los niveles de c-di-AMP en la célula.

Una más de las vías de señalización celular en las que participa el c-di-AMP es el transporte de potasio. Este ion es de fundamental importancia en todas las células vivas. En las bacterias, el potasio tiene funciones esenciales para la adaptación a los cambios en la **osmolaridad**, ya que controla la actividad de las enzimas intracelulares, regula el pH interno y mantiene un **potencial de membrana** apropiado. Se sabe que una proteína bacteriana transportadora de potasio, conocida como KtrA, ve inhibida su función al unírsele el c-di-AMP. Estudios en *S. aureus* mostraron que el aumento intracelular de c-di-AMP exhibe tasas de supervivencia más bajas en comparación con condiciones en las que las concentraciones de c-di-AMP no varían. El vínculo entre c-di-AMP y las proteínas del canal de iones de potasio se en-

cuentra no sólo en *Staphylococcus*, sino también en las especies de *Bacillus* y *Streptococcus*.

Por otro lado, DarR es una proteína que fue reportada como el primer receptor de c-di-AMP en la bacteria *Mycobacterium smegmatis*. Ésta tiene la capacidad de unirse a regiones específicas del ADN que están involucradas en el metabolismo de ácidos grasos y de otras moléculas orgánicas. Los ácidos grasos son componentes esenciales de las membranas y fuentes importantes de energía metabólica en todos los organismos; al mismo tiempo, hay enzimas encargadas de la producción o modificación de **acil-CoA** que son esenciales para la síntesis de lípidos, el catabolismo de los ácidos grasos y la remodelación de los fosfolípidos. El mecanismo detallado de la regulación por c-di-AMP de DarR no se conoce bien, ni se ha identificado el sitio de unión de c-di-AMP, pero se ha demostrado que c-di-AMP estimula la unión de DarR a su secuencia objetivo de ADN.

El c-di-AMP también está involucrado con otras moléculas de señalización, como el tetrafosfato de guanosina y pentafofosfato de guanosina (denominados colectivamente (p)ppGpp). Este compuesto desencadena una serie de vías de señalización conocida como **respuesta estricta**, utilizada por la gran mayoría de las especies bacterianas para lidiar con deficiencias nutricionales. La respuesta estricta y (p)ppGpp tienen funciones importantes en la regulación de la virulencia bacteriana, la supervivencia durante la invasión del huésped, la resistencia a los antibióticos, la formación de biopelículas y la esporulación.

La conexión entre estos dos sistemas de señalización de nucleótidos es bidireccional; (p)ppGpp inhibe la degradación de c-di-AMP, lo que conlleva un aumento en la concentración de c-di-AMP. De hecho, los estudios con *L. monocytogenes* han revelado que la eliminación de las enzimas ciclasas de c-di-AMP sólo es posible en bacterias que carecen de (p)ppGpp, lo que sugiere que ambos sistemas están vinculados para responder a las señales de estrés.

Proyecciones en el estudio y aplicación de c-di-AMP
 Con lo hasta aquí mencionado, es notorio que los segundos mensajeros son elementos críticos para las

Acil-CoA
 Unión de coenzima A y grupos acilo derivados de ácidos carboxílicos mediante un enlace tioéster fundamental en la síntesis de ácidos grasos.

Respuesta estricta
 Mecanismo de respuesta a estrés, propia de organismos bacterianos, activado ante la deficiencia de nutrientes.

Osmolaridad
 Concentración de partículas activas en el medio.

Potencial de membrana
 Diferencia de potencial de iones a ambos lados de una membrana biológica.



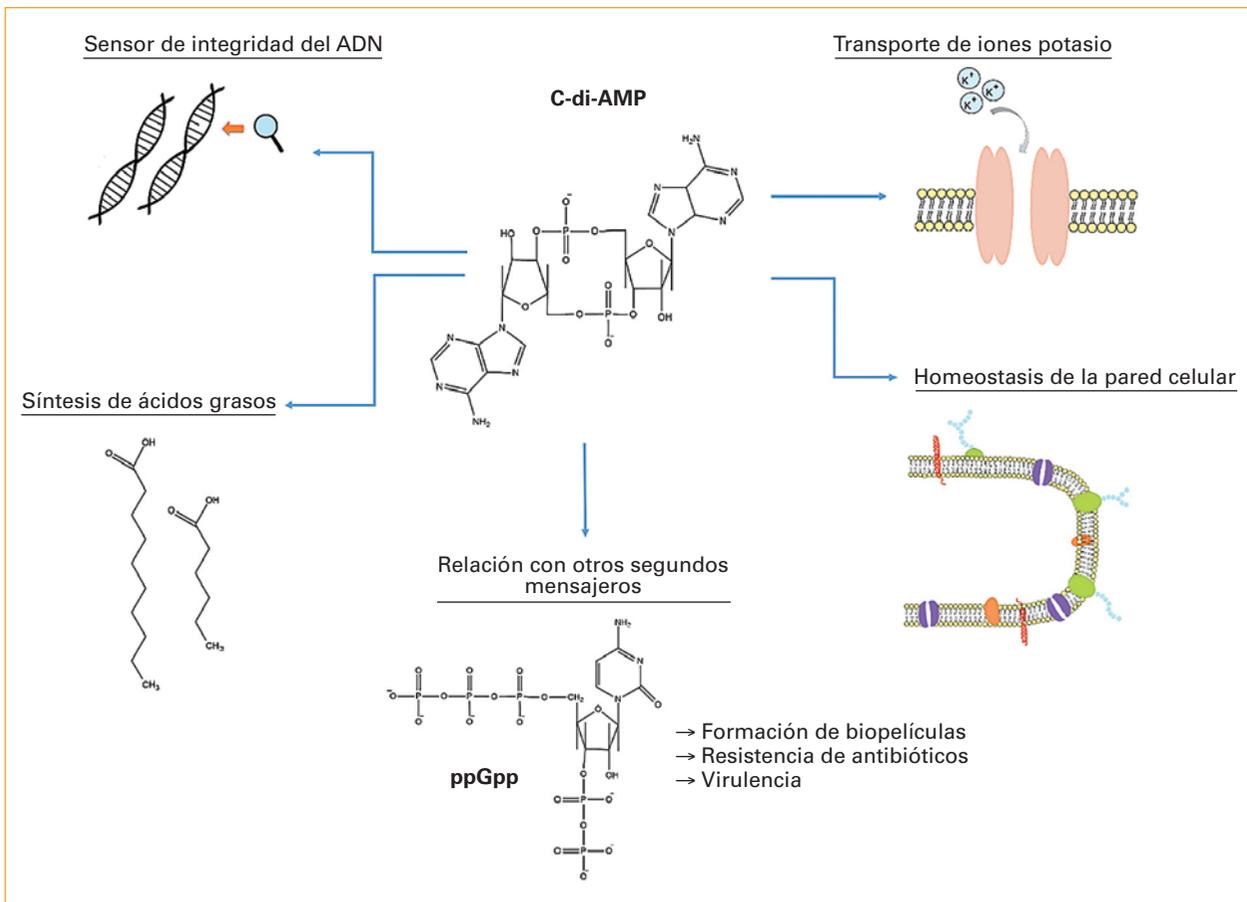


Figura 3. Funciones celulares bacterianas conocidas por ser reguladas por c-di-AMP. Este segundo mensajero se relaciona con diversas vías metabólicas en las células en las que se produce. Algunas de estas funciones son el aseguramiento de la integridad del material genético (ADN), la síntesis de ácidos grasos, el transporte de iones de potasio (K^+) a través de la membrana celular, la homeostasis de la pared celular bacteriana y la relación directa con otros segundos mensajeros nucleotídicos, como el (p)ppGpp, implicado en la formación de biopelículas, la resistencia a antibióticos y factores de virulencia regulados mediante la respuesta estricta.

vías de transducción de señales utilizadas por muchos organismos. Éstos están involucrados en la regulación de varios procesos celulares clave en las bacterias, muchas de ellas importantes desde el punto de vista de la biotecnología. En la última década, el c-di-AMP se ha identificado como un factor central en diversas bacterias Gram positivas, como es el caso de la regulación de la síntesis de la pared celular, los canales de iones de potasio, la reparación del ADN, entre otras funciones (véase la Figura 3). Éstas y otras actividades celulares pueden verse modificadas al alterarse la síntesis o degradación del c-di-AMP, por lo que actualmente se buscan estrategias que permitan cambiar las funciones de las enzimas implicadas en producir o degradar a este segundo mensajero, con lo que se provoca su disminución o aumento dentro

de las células. Los cambios mencionados permiten aprovechar la desregulación metabólica generada y propiciar condiciones deseables en muchas bacterias patógenas; por ejemplo, al hacerlas susceptibles a la **lisis** celular para su erradicación, lo cual implica nuevas opciones de antibióticos.

Por otro lado, se investiga si hay segundos mensajeros como el c-di-AMP que son reconocidos más allá de las células bacterianas. A este respecto, se ha reportado que las células de las raíces de algunas plantas son capaces de detectar la presencia de bacterias benéficas y generar relaciones simbióticas mediante el reconocimiento de c-di-AMP; por lo tanto, esto representa un enorme potencial biotecnológico en la industria agroalimentaria, ya que permitiría la producción de más y mejores plantas mediante la in-

Lisis → Ruptura de la membrana y pared celular bacteriana que implica la salida del material biológico y, por ende, la muerte de las células.

teracción directa con sus hospederos naturales, pero regulando o propiciando condiciones para un mejor aprovechamiento de los recursos de señalización compartidos. Éstas y otras utilidades son aún materia de investigación cuya aplicación busca rendir frutos en el corto plazo.

Gipumi Torres Abe

Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango.
kipumi15@gmail.com

Elizabeth Cisneros Lozano

Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango.
elifonsi53@gmail.com

Víctor Manuel Ayala García

Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango.
victor.ayala@ujed.mx

Lecturas recomendadas

- Commichau, F. M., A. Dickmanns, J. Gundlach, R. Ficner y J. Stulke (2015), "A jack of all trades: the multiple roles of the unique essential second messenger cyclic di-AMP", *Molecular Microbiology*, 97 (2): 189-204.
- Corrigan, R. M. y A. Grundling (2013), "Cyclic di-AMP: another second messenger enters the fray", *Nature Reviews Microbiology*, 11 (8): 513-524.
- Fahmi, T., G. C. Port y K. H. Cho (2017), "c-di-AMP: An Essential Molecule in the Signaling Pathways that Regulate the Viability and Virulence of Gram-Positive Bacteria", *Genes (Basel)*, 8 (8): 197.
- Pham, T. H., Z. X. Liang, E. Marcellin y M. S. Turner (2016), "Replenishing the cyclic-di-AMP pool: regulation of diadenylate cyclase activity in bacteria", *Current genetics*, 62 (4): 731-738.
- Valenzuela-García, L. I., V. M. Ayala-García, A. G. Regalado-García, P. Setlow y M. Pedraza-Reyes (2018), "Transcriptional coupling (Mfd) and DNA damage scanning (DisA) coordinate excision repair events for efficient *Bacillus subtilis* spore outgrowth", *Microbiology Open*, 7 (5): e00593.