



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Factores de virulencia de *Helicobacter pylori*  
involucrados en su persistencia, colonización y  
patogenicidad**

Autor: Javier Martín Heras

Tutor: Concepción Pintado García

Convocatoria: Junio 2017

## RESUMEN

---

Los pasos críticos para que *Helicobacter pylori* pueda colonizar las células epiteliales gástricas y dé lugar a la enfermedad -gastritis, úlcera péptica o cáncer- son cuatro; dichos pasos son posibles gracias a sus factores de virulencia: la **ureasa**, que permite su supervivencia en el ambiente ácido del estómago, los **flagelos** con los que la bacteria se mueve a través del moco, las **proteínas de membrana externa** que interactúan con receptores de la superficie de las células del hospedador, el **sistema de secreción tipo IV (T4SS)** que va a permitir la translocación de la principal toxina de esta bacteria, **CagA**, que junto con **VacA** son las dos proteínas secretadas en mayor cantidad por *H.pylori*, siendo CagA, en mayor medida, responsable del daño que pueden provocar en el hospedador.

CagA es la principal toxina de esta bacteria y va a interferir en diversas cascadas de señales intracelulares, llegando a provocar la aparición de cáncer. Además, existen dos isoformas de la misma, Western CagA y East Asian CagA, siendo esta última más virulenta.

### ABSTRACT

---

Four steps are critical for *Helicobacter pylori* to colonize gastric epithelial cells and development of the disease pathogenesis, like gastritis and peptic ulcer or cancer. These steps are possible thanks its virulence factors: **urease**, allows survival in the acidic environment of the stomach; **flagella** which bacteria can move with them through mucus; **outer membrane proteins** interacting with host cell surface receptors; **type IV secretion system (T4SS)**, structure for the translocation of the main toxin, CagA. **CagA** and **VacA** are the majority proteins secreted by *H.pylori* being CagA, to a greater extent, responsible of the damage they can cause in the host.

CagA is the main toxin of this bacterium and will interfere in various cascades of intracellular signals, leading to the onset of cancer. In addition, there are two isoforms, Western CagA and East Asian CagA, the latter being more virulent.

# INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

---

*Helicobacter pylori* es una bacteria Gram negativa que coloniza el estómago del 30-80% de la población mundial, siendo más prevalente en países de Latinoamérica (75-83%) y menos en otros como Japón (39,6%). La colonización de las células epiteliales gástricas, que se produce habitualmente en la infancia y se mantiene durante muchos años o incluso toda la vida, puede ser asintomática o dar lugar a trastornos que van desde una inflamación gástrica y úlcera gastroduodenal hasta adenocarcinoma gástrico y linfoma de células B de tejido linfoide asociado a mucosas (linfoma MALT). Estos cuadros patológicos están relacionados con factores de virulencia de la bacteria, principalmente con la proteína asociada al gen A (CagA), aunque también existen otros factores involucrados en el proceso de colonización y patogénesis <sup>[1, 2]</sup>.

*H.pylori*, es la única bacteria clasificada como carcinógeno de clase I por la OMS <sup>[3]</sup>, si bien en el desarrollo de cáncer también intervienen otros factores (predisposición genética, genotipo bacteriano y factores ambientales).

Este microorganismo se caracteriza por ser un bacilo de morfología curvada o espirilar, microaerófilo, móvil por medio de cuatro a siete flagelos polares envainados, que terminan en un engrosamiento en forma de bulbo y es nutricionalmente exigente, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 37°C <sup>[4]</sup>.

*H.pylori* es capaz de sobrevivir y adaptarse en un medio tan agresivo como es la mucosa gástrica, cuyo pH ácido impide su colonización por otras bacterias; la producción de ureasa, que hidroliza la urea presente en el estómago, generando amoníaco y neutralizando la acidez, es esencial para la colonización del epitelio gástrico <sup>[5]</sup>.

La gran movilidad que le proporcionan sus flagelos le permite alcanzar el epitelio de la mucosa gástrica, situado por debajo de la capa de mucina secretada por las células de la superficie. En este sentido los flagelos pueden considerarse como un factor temprano de virulencia/colonización <sup>[5]</sup>.

Aunque *H.pylori* no se considera una bacteria invasiva, diversos estudios han demostrado que existe internalización, mecanismo por el que podría escapar del sistema inmune <sup>[6, 7]</sup>.

Durante el proceso de infección, este microorganismo va a establecer contacto con la superficie de la mucosa gástrica por medio de unas proteínas de membrana externa, presentes en la mayoría de las bacterias Gram negativas, conocidas como OMPs (outer membrane proteins). Estas proteínas interactúan con distintos receptores presentes en el hospedador, siendo esencial esta adhesión para la colonización, ya que de esta manera no puede ser eliminada del estómago por los movimientos peristálticos y el vaciado gástrico.

Tras la colonización de la mucosa gástrica, tiene lugar la liberación de toxinas, que dañan las células del hospedador y suministran nutrientes a la bacteria para mejorar su crecimiento [5].

El principal factor de virulencia de *H.pylori* es la proteína CagA, codificada por el gen *cagA*, incluido en la isla de patogenicidad *cag* (*cag*-PAI) de su genoma y expresada por la mayoría de las cepas. Se trata de una citotoxina con actividad pleiotrópica, ya que activa diferentes sistemas de señales en la célula hospedadora, provocando diversos efectos negativos: ruptura de uniones intercelulares, estimulación de linfocitos, desregulación del ciclo celular, apoptosis celular y también desencadena la producción de interleucinas inflamatorias, pudiendo dar lugar a una inflamación crónica. Todas estas funciones están relacionadas con los diferentes cuadros patológicos citados anteriormente y también con la aparición de cáncer gástrico [1, 8]. Debido a su asociación con el cáncer gástrico, CagA se ha clasificado como una proteína oncogénica.

CagA es fosforilada en el interior de la célula epitelial gástrica por tirosin quinasas del hospedador y, posteriormente, va a interactuar con diversas proteínas que presentan dominios SH2 (Scr homology 2), provocando su desfosforilación y afectando negativamente a la diferenciación epitelial, adhesión, polaridad y migración celular, dando lugar a un reordenamiento del citoesqueleto y desregulando la transducción de señales del mismo [8].

Esta proteína es inyectada en las células del hospedador por el sistema de secreción de tipo IV o T4SS, otro factor de virulencia también codificado en la región *cag*-PAI. Este sistema participa en la translocación de proteínas citoplasmáticas al exterior actuando como una "jeringa" y está presente en bacterias Gram negativas. Además de encontrarse en *H.pylori*, también lo está en otras bacterias como *Agrobacterium tumefaciens*, *Bordetella pertussis* y *Legionella pneumophila* [9].

Este sistema de secreción está involucrado, junto con otros factores de virulencia como las OMPs, en la secreción y translocación de la proteína CagA hacia el interior de la célula hospedadora [9, 10].

Otra de las proteínas secretadas por *H.pylori* más estudiadas es la toxina vacuolizante VacA, con diferentes acciones como formación de vacuolas citoplasmáticas, daño en la mitocondria y apoptosis y modulación de la transducción de señales inmunes. El gen *vacA* que la codifica se encuentra en todas las cepas identificadas [11], lo que sugiere que la producción de VacA juega un papel importante en la colonización y persistencia del microorganismo en el estómago humano [12]. Es un modelo de toxina formadora de poros.

*H.pylori* es una bacteria que puede producir inflamación, destrucción de tejido y variación en el nivel de HCl secretado en el estómago, siendo estos efectos responsables de los diversos cuadros patológicos.

Los pasos críticos para la colonización, la infección persistente y el desarrollo de la enfermedad, son cuatro: supervivencia en el medio ácido, movimiento hacia la superficie del epitelio gástrico, adhesión a las células y, por último, liberación de toxinas que darán lugar al daño tisular [5].

A continuación se analizarán los factores relacionados con la colonización de las células epiteliales gástricas, la translocación de CagA y los efectos de ésta en el interior de la célula hospedadora [1, 13].

Los **objetivos** que se persiguen en este trabajo son:

- Estudiar los diversos factores de virulencia de *Helicobacter pylori* y su relación con la supervivencia, persistencia y capacidad de causar daño en el organismo hospedador.
- Resaltar las diferencias entre las dos isoformas mayoritarias de la citotoxina CagA: Western CagA y East Asian CagA.
- Profundizar en el mecanismo de acción de CagA en el interior de la célula epitelial gástrica y en su capacidad para interferir en diversas cascadas de señales para provocar, finalmente, el desarrollo de cáncer.

## MATERIAL Y METODOLOGÍA

---

En la elaboración de este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica de diversas fuentes de información para obtener la más amplia información posible sobre el tema tratado.

Se han realizado consultas en libros de Microbiología General y Microbiología Clínica, artículos científicos, revistas de divulgación científica y diferentes bases de datos, siendo las principales Bucea, Pubmed y Wiley Online Library.

Las palabras clave para realizar las diferentes búsquedas fueron: CagA, *cag-PAI*, *Helicobacter pylori* y T4SS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

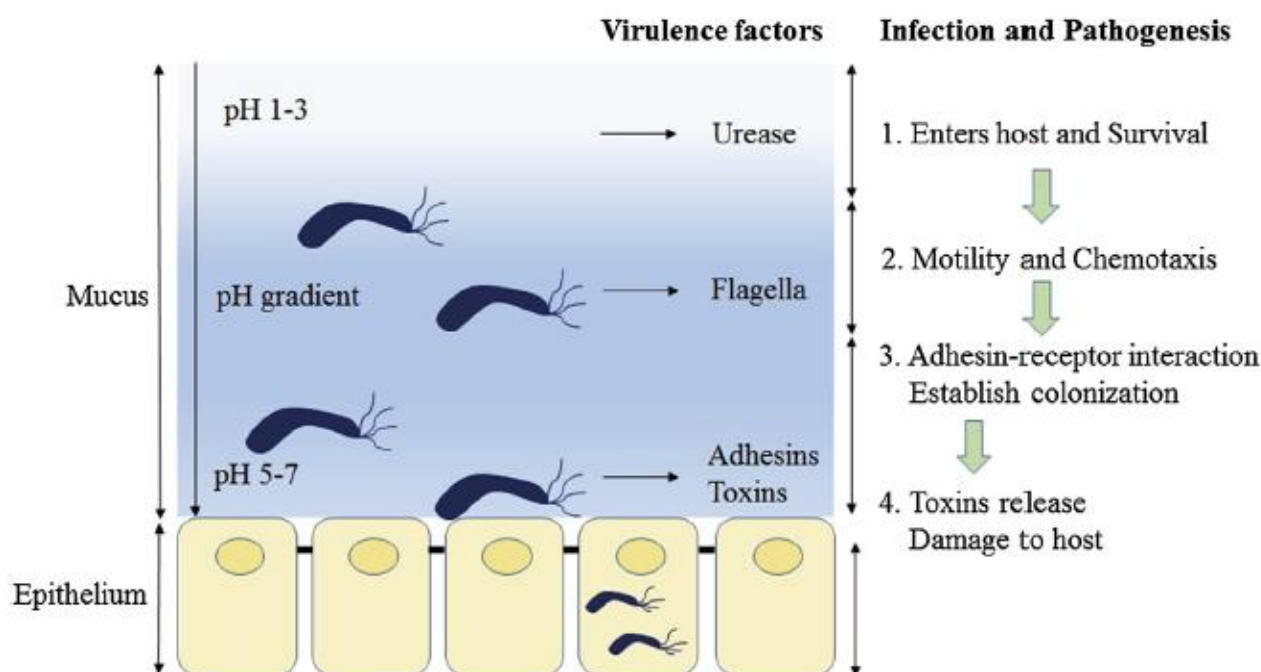
---

*H.pylori* ha desarrollado un mecanismo de adaptación a la acidez del estómago, ajustando el pH del medio con ayuda de la enzima **ureasa**, que hidroliza la urea y expulsa al exterior iones amonio para neutralizar el ambiente ácido en el que se encuentra. La ureasa está presente tanto en el citoplasma como asociada a la superficie de la bacteria; es una metaloenzima que necesita iones níquel ( $Ni^{+}$ ) para su acción.

El complejo génico de la ureasa está compuesto por siete genes que codifican las dos subunidades catalíticas (*ureA/B*), un canal transportador dependiente de acidez (*ureI*) y varias proteínas accesorias de ensamblaje (*ureE-H*). Los canales presentes en la membrana citoplasmática regulan la actividad de la ureasa en función de la acidez; están cerrados a pH 7 y abiertos a pH 5 y permiten la entrada de la urea en la bacteria, aceleran su hidrólisis y la salida del amonio producido, neutralizando rápidamente los protones que entran en el espacio periplásmico, lo que proporciona a la bacteria un microambiente favorable para sobrevivir mientras llega al epitelio gástrico <sup>[5]</sup>.

Estudios en modelos experimentales demuestran que cepas mutantes ureasa-negativas son incapaces de colonizar la mucosa del modelo animal en cerdos <sup>[14]</sup>.

Una vez neutralizado el medio ácido, el microorganismo puede atravesar la capa de moco que cubre la superficie de las células epiteliales gástricas gracias a la movilidad que le proporcionan sus **flagelos polares**, esenciales para la colonización y que están compuestos por un cuerpo basal, el filamento y un gancho que une las dos partes anteriores; el filamento está codificado por los genes *flaA* y *flaB*. Para que los flagelos puedan ejercer su actividad correctamente es necesario que se encuentren con un nivel alto de glicosilación [5]. Se ha demostrado que las cepas carentes de flagelos son incapaces de colonizar modelos animales [15]. La forma de espiral contribuye a su mantenimiento en la capa de moco [16].



**Figura 1.** Factores de virulencia implicados en la supervivencia de *H.pylori* en el estómago.

Después de que el microorganismo atraviesa la capa mucosa tiene lugar la colonización de las células epiteliales gástricas, proceso en el que las **proteínas de membrana externa (OMPs)**, desempeñan un importante papel. Se caracterizan por poseer una conformación en cadenas  $\beta$  y participan en diversas funciones de vital importancia para la bacteria, desde el transporte de nutrientes hasta la transducción de señales procedentes del medio externo. (Figura 1)

En la secuenciación y análisis del genoma de la cepa *H.pylori*26695, se han encontrado 21 OMPs diferentes, incluidas dentro de la familia Hop (*Helicobacter* outer membrane proteins), pero no todas han sido purificadas hasta el momento [10]. (Tabla 1)

OMPs	Receptores	Función
<b>BabA (HopS)</b>	- Lewis B - Globo-H-hexaglicosilceramida - Globo-A-heptaglicosilceramida	Adhesión a la célula hospedadora y translocación de CagA vía T4SS.
<b>SabA (HopP)</b>	- Sialyl Lewis X - Sialyl Lewis A	Adhesión a la célula hospedadora.
<b>OipA (HopH)</b>	Desconocido	Adhesión a la célula hospedadora e inducción a la producción de citoquinas proinflamatorias.
<b>HopQ</b>	- CEACAM 1, 3, 5 y 6	Adhesión a la célula hospedadora y translocación de CagA vía T4SS.
<b>AlpA/B (Hop C/B)</b>	- Colágeno IV - Lamininas	Adhesión a la célula hospedadora

**Tabla 1.** OMPs de *H.pylori* que interaccionan con receptores celulares y funciones.

**BabA** (blood antigen-binding adhesin): Fue identificada como la primera molécula de adhesión de *H.pylori*, y se une al receptor Lewis B (Le<sup>b</sup>), dicha unión puede alterarse con N-acetilcisteína [10]. Se han identificado 3 alelos, *babA1*, *babA2* y *babB*; la cepas que no presentan el alelo *babA2*, tienen una producción deficiente de esta OMP [5].

BabA participa en la translocación de CagA vía T4SS y en la inducción de una inflamación severa en la mucosa gástrica

Las cepas triple positivas para BabA, CagA y *vacA-s1*, en comparación con las doble positivas para CagA y *vacA-s1*, pueden colonizar una gran porción de la mucosa gástrica y dar origen a una inflamación severa, además de mostrar una gran incidencia de metaplasia intestinal.

**SabA** (sialic acid binding adhesin): también participa en la adhesión y colonización, utilizando Sialyl Lewis X, A y B como receptores [5], y en la inducción de respuesta inmunitaria en la mucosa gástrica.

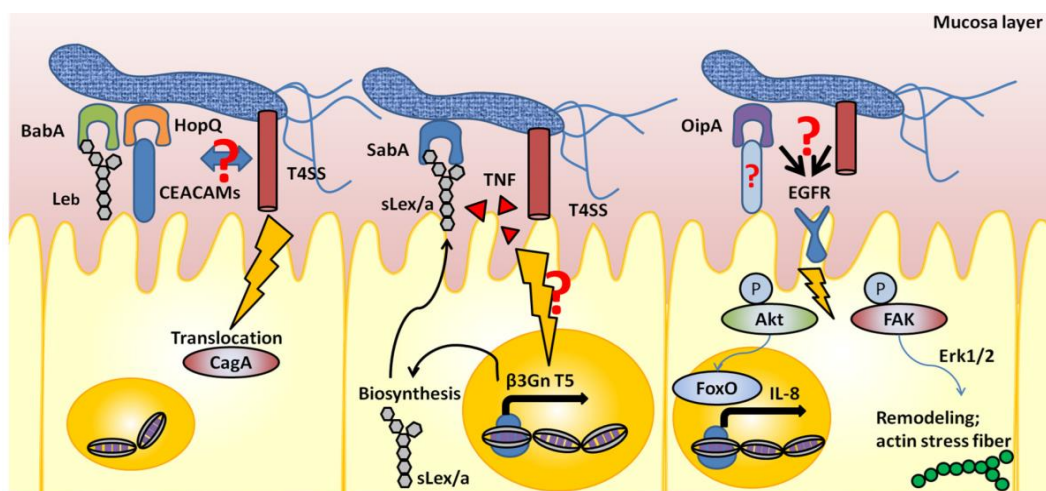
La actividad de esta OMP dependerá del número de dinucleótidos C-T presentes en la región 5' del gen que la codifica. Las señales ácidas van a regular la transcripción de SabA en *H.pylori*, es decir, la adaptación al medio de la bacteria es precursora de la adhesión vía SabA.

Se cree que hay una relación de esta OMP con T4SS y TNF, ya que parece que estos dos últimos inducen la expresión del receptor Lewis X (Le<sup>x</sup>). En la biosíntesis de este receptor es esencial la presencia de la glicosiltransferasa  $\beta$ 3GnT5, cuya inducción es dependiente de TNF y T4SS <sup>[10]</sup>.

Estudios con cepas positivas y negativas para la producción de SabA han mostrado una mayor densidad de bacterias durante la colonización en el caso de las cepas positivas, por lo que esta OMP es fundamental en este proceso <sup>[5]</sup>.

**OipA** (outer inflammatory protein A): La función de esta proteína no está claramente definida, ya que hay cierta controversia sobre su capacidad para inducir o no respuesta inflamatoria en la mucosa gástrica y su participación en la adhesión. Estudios in vitro establecen que participa en la adhesión a las células epiteliales gástricas, mientras que en modelos animales se ha comprobado que esta función depende del tipo de cepa de *H. pylori*.

Se ha propuesto que OipA provoca un remodelado de las fibras de actina debido a la fosforilación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que afectará negativamente a su señalización y actuará sobre las fibras de actina. La alteración de las señales del EGFR parece provocar también un aumento de la síntesis de IL-8. Se desconoce la existencia de una posible interacción con T4SS <sup>[10]</sup>. (Figura 2)



**Figura 2.** Ejemplos de la intervención de OMPs en la patogénesis de *H. pylori*.

**HopQ:** es una proteína que colabora con T4SS en la translocación de CagA, a pesar de que no está codificada dentro de la región *cag*-PAI, establece uniones con antígenos carcinoembrionarios relacionados con células de adhesión, CEA-CAMs, en concreto con las isoformas CEACAM1, CEACAM3, CEACAM5 y CEACAM6 <sup>[1, 10]</sup>.

**AlpA/B** (adherence-associated lipoproteins A and B): se encuentran involucradas en la adhesión a la célula epitelial gástrica, estableciendo uniones con los receptores colágeno IV y laminina de la matriz extracelular. Esta OMP siempre se expresa en *H.pylori*, por otro lado, el resto de OMPs son expresadas por dicha bacteria en función de la cepa a la que pertenece. AlpA/B son esenciales para la colonización, pero se cree que no están relacionados con CagA ni con T4SS, pero sí con la producción de IL-8 durante la respuesta inflamatoria crónica <sup>[10]</sup>.

Tras la colonización de la célula epitelial gástrica, *H.pylori* secreta toxinas, siendo CagA y VacA las más destacadas y abundantes. Ambas actúan en las células gástricas alterando cascadas de señales con múltiples efectos: desestabilizan uniones celulares, provocan la apoptosis celular, desencadenan señales proinflamatorias, desregulan el ciclo celular y actúan sobre oncogenes. Todos estos procesos llevan a la inflamación de la mucosa gástrica, destrucción de las células y producción de neoplasias <sup>[17]</sup>.

**VacA** es una de las toxinas secretadas por *H.pylori* en mayor cantidad. Se forma como una pro-toxina de 140 kDal que consiste en una secuencia señal, responsable de la salida de la toxina a través de la membrana citoplasmática de la bacteria, un dominio pasajero, formado por dos subunidades, p33 y p55, y un dominio autotransportador, actuando éste último como un sistema de secreción tipo V y, permitiendo que la toxina atraviese la membrana externa. La toxina madura, denominada p88, está constituida por las dos subunidades citadas: p33, implicada en la formación de poros y p55, encargada de la unión a las células, aunque parece ser que tanto una como otra pueden intervenir en ambas funciones <sup>[11]</sup>.

El gen codificante *vacA* presenta polimorfismos, ya que está compuesto por tres regiones variables: región señal (*s*), región media (*m*) y región intermedia (*i*). Tanto la región *s* como la *m* presentan dos alelos diferentes, *s1* y *s2* y *m1* y *m2*, respectivamente. La combinación de alelos *s1/m1* está asociada al mayor nivel de virulencia y un mayor riesgo de cáncer gástrico. Por otro lado, el alelo *i* está relacionado con la producción de CagA <sup>[5, 11]</sup>.

Esta toxina es capaz de ensamblarse en la bicapa lipídica de la membrana celular del hospedador, formando estructuras hexaméricas que actúan como un canal selectivo de aniones.

VacA se considera una toxina multifuncional, debido a la variedad de efectos que provoca en la célula hospedadora: se internaliza en la célula y forma vacuolas con características de endosomas y lisosomas; puede unirse a mitocondrias y translocarse a través de la membrana externa y formar un canal que la atraviesa, esto dará lugar a una cascada de señales que finalizará con la apoptosis de la célula; y también es capaz de inducir señales proinflamatorias a nivel nuclear y activar la proliferación de células T.

Además de la toxina VacA, *H.pylori* también produce otra toxina conocida como CagA, que es inyectada al interior de la célula gástrica a través del T4SS <sup>[17]</sup>.

**CagA** es la toxina secretada en mayor cantidad por *H.pylori*, además de ser la principal responsable de la patogenicidad de esta bacteria. Es una proteína de elevado peso molecular (120-145 kDal) y altamente inmunogénica, que se encuentra codificada en la isla de patogenicidad *cag*-PAI, una secuencia de 40 kb que contiene 27-31 genes, dentro de los cuales también está codificado el sistema de secreción tipo IV (T4SS). Esta región *cag*-PAI, probablemente adquirida por transferencia horizontal, es determinante para la patogenicidad de la bacteria.

La cepa de *H.pylori* que contiene esta región se denomina Tipo I <sup>[6]</sup> o *cag*-PAI positiva y cuando infecte tendrá un mayor riesgo de producir inflamación severa en la mucosa gástrica, úlceras duodenales y cáncer gástrico, que en el caso de una cepa sin dicha isla de patogenicidad, la cual se denomina *cag*-PAI negativa <sup>[18]</sup>.

La toxina presenta en la región C-terminal una secuencia aminoácidos que se repite (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) o “motivo EPIYA”, llamada así por los cinco aminoácidos que la forman. Existen variantes de estos motivos, que son sitios de fosforilación por las quinasas del hospedador y están relacionados con la capacidad oncogénica de la proteína; según la secuencia de aminoácidos alrededor de los mismos, se clasifican en EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C y EPIYA-D.

El tipo y número de combinaciones de las diferentes regiones EPIYA son responsables de las variaciones de tamaño y características de CagA entre las distintas cepas de *H. pylori* existiendo dos isoformas de la toxina: CagA de Occidente (Western CagA) producida por *H.pylori* en países occidentales y distribuida por Europa, Estados Unidos y Australia y CagA de Asia Oriental (East Asian CagA) producida por *H.pylori* en países asiáticos como Japón, Corea del Sur y China.

Las cepas occidentales contienen los motivos A y B y diferentes combinaciones de C, como ABC, ABCC y ABCCC, mientras que las cepas de Asia Oriental contienen los motivos A y B y varias combinaciones de D, como ABD y ABDD. Estas diferencias en dominios EPIYA se verán reflejadas en su activación y potencial oncogénico <sup>[19]</sup>.

El sistema de secreción de tipo IV (T4SS) es el encargado de llevar a cabo el proceso de translocación de CagA al interior de la célula huésped; es un complejo formado por varias proteínas, Cag3, CagM, CagT, CagX y CagY, además de un pili extracelular que interacciona con el receptor de la superficie de la célula epitelial gástrica. Este receptor es la integrina  $\alpha_5\beta_1$ , uniéndose con gran afinidad a esta proteína; T4SS también puede utilizar un fosfolípido de membrana, la fosfatidilserina, para translocar CagA <sup>[1, 13, 20]</sup>. Este sistema de transporte está presente en otras bacterias Gram negativas como *B.pertussis* o *L.pneumophila* <sup>[9]</sup>.

La translocación también puede producirse de forma independiente al T4SS, mediante vesículas de tamaño variable (20-300nm) conocidas como vesículas de membrana externa (OMVs), una nueva estrategia descubierta hace poco tiempo que representa un mecanismo adicional de entrada de este potente factor de virulencia al interior de las células hospedadoras. Estas OMVs son endocitadas mediante mecanismos tanto dependientes como independientes de clatrina <sup>[13]</sup>. (Figura 3-A)

Una vez en el interior de las células epiteliales, CagA se localiza en la superficie interna de la membrana citoplasmática y es fosforilada secuencialmente por tirosina quinasas del hospedador, como Src y Abl. Estas enzimas actúan sobre residuos de tirosina localizados en la región C-terminal de la proteína, en concreto, en los motivos EPIYA.

CagA fosforilada interactúa de nuevo con **Src** en un proceso de retroalimentación negativa que controla dicha fosforilación, inhibiendo la actividad catalítica de esta tirosina quinasa; se produce entonces una desfosforilación en tirosinas de proteínas del hospedador, como cortactina, ezrina y vinculina, encargadas de la regulación del citoesqueleto, produciéndose cambios morfológicos drásticos en las células infectadas por *H.pylori* <sup>[21]</sup>.

De igual manera, la citotoxina CagA fosforilada interaccionará con determinadas proteínas citoplasmáticas humanas que poseen dominios específicos SH2, capaces de unirse a tirosinas fosforiladas. Entre estas proteínas del hospedador se encuentra la oncoproteína citoplasmática **tirosina-fosfatasa SHP2**, pero también otras como Csk y Crk.

La fosfatasa SHP2 desregulada va a potenciar la transmisión de señales en la ruta mitogénica Ras-Erk, con el consiguiente aumento del crecimiento celular y, también inhibe una quinasa que regula la forma de la célula y su migración. Estas interacciones activan diferentes cascadas de señalización, que conducen a alteraciones importantes en la morfología celular, aumento del tamaño, reordenaciones del citoesqueleto, proliferación excesiva e incremento de la motilidad celular, un cambio característico en la célula del hospedador, denominado “fenotipo colibrí” [22].

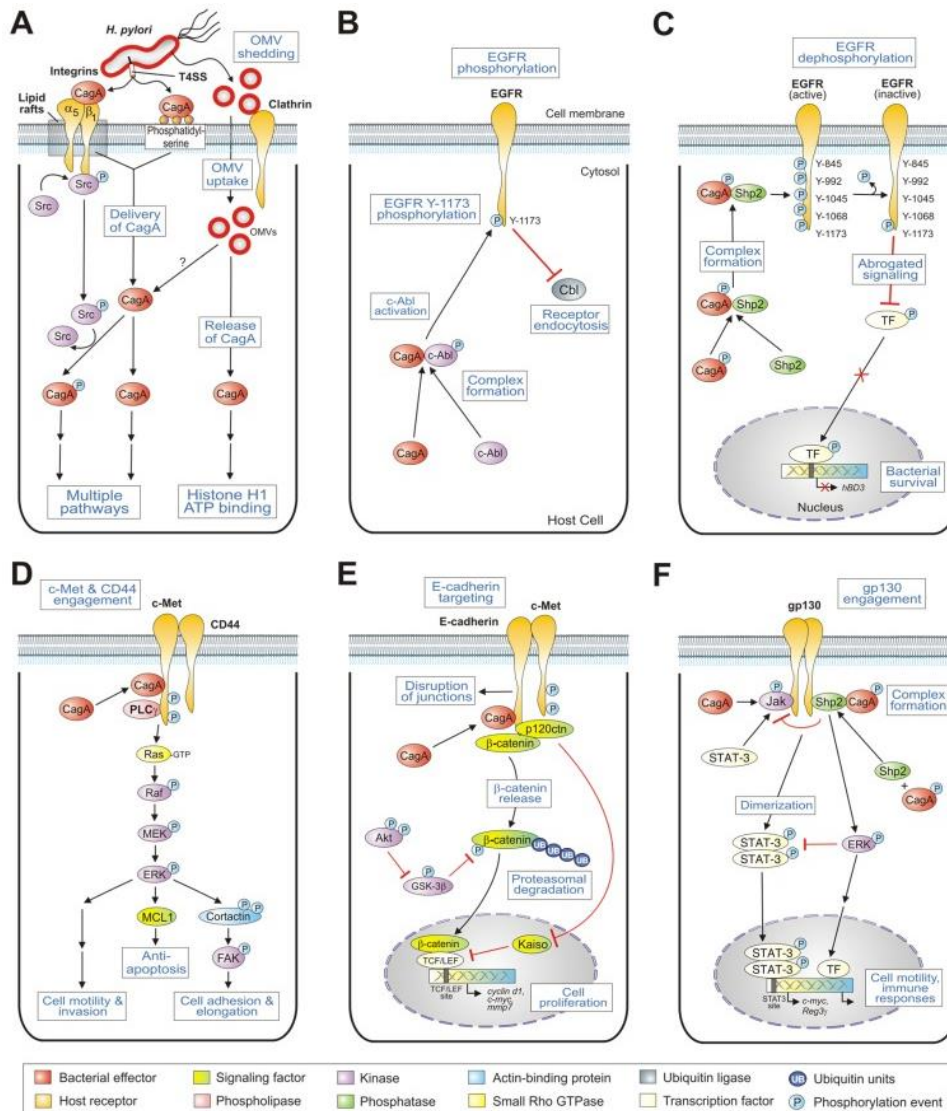
Ambas isoformas de CagA activarán la oncoproteína SHP2, pero CagA de Asia Oriental será un promotor más potente de la proliferación celular debido a que la unión de sus regiones EPIYA-D con dicha oncoproteína son más fuertes, en comparación con la unión de las regiones EPIYA-C, presentes en CagA de Occidente [19]. Por lo tanto, la primera isoforma está asociada a una mayor virulencia que la segunda, a una mayor translocación de la citotoxina y capacidad de producción de inflamación en la mucosa gástrica, traduciéndose en un mayor potencial oncogénico y también en una mayor secreción de IL-8 [18].

CagA fosforilada también interacciona con el **complejo de serina/treonina quinasas PAR-1/MARK (partitioning-defective/microtubule affinity-regulating kinase)**, por medio de los “dominios repetitivos” donde se encuentran los motivos EPIYA, inhibiendo estas quinasas. El papel de estas proteínas es esencial en el ciclo celular, encargándose de la dinámica del citoesqueleto, concretamente de la estabilidad de los microtúbulos; esta interacción produce cambios en el reordenamiento y de nuevo origina el peculiar “fenotipo colibrí” [11].

La interacción con el complejo PAR-1/MARK se establece, por un lado, mediante una región de la citotoxina denominada MKI (inhibidor de la quinasa MARK2), que se unirá a MARK; siendo esta unión diferente en las dos isoformas de CagA, ya que East Asian CagA posee un residuo de glicina en la posición 955 de la secuencia MKI, mientras que en Western CagA, el residuo en esa posición es de lisina, lo que se traduce en una unión y, por tanto, en una inhibición más fuerte de la isoforma East Asian CagA con MARK [23].

Por otro lado, la secuencia de multimerización-CagA (CM), formada por 16 aminoácidos, presente en el extremo C-terminal de la citotoxina, interacciona con PAR-1; esta unión va a ser de gran importancia en relación a la estabilidad de CagA en el interior de la célula epitelial gástrica, pero no variará su tiempo de semivida, que es de 200 minutos [24].

Esta secuencia CM puede encontrarse repetida en el extremo C-terminal, pero no es determinante su número en su actividad, ya que una sola secuencia CM es suficiente para inhibir a PAR-1 [19].



**Figura 3.** Esquema de las interacciones CagA-dependientes de *H.pylori* con receptores de la célula hospedadora y alteraciones de las cascadas de señales intracelulares.

Durante su evolución, CagA ha desarrollado diferentes estrategias para interactuar con las células epiteliales gástricas y controlar sus procesos y funciones, una vez que se encuentra en el interior de éstas, favoreciendo así la supervivencia del microorganismo en el hospedador [1]. Esta citotoxina va a interferir en numerosas cascadas de señales a nivel intracelular, cuya consecuencia principal será potenciar, e incluso causar directamente, la aparición de procesos cancerígenos [1, 13].

CagA puede unirse con la quinasa c-Abl, para fosforilar el **receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)** presente en la superficie celular. Este receptor juega un papel clave en el crecimiento celular normal, la supervivencia, la proliferación y la cicatrización de heridas. Su fosforilación en un residuo de tirosina, en concreto el residuo 1173, trastorna su función, desregulando la proliferación celular y originando procesos oncogénicos, además de activar la transcripción del factor proinflamatorio NF- $\kappa$ B <sup>[13]</sup>. (Figura 3-B)

Además, esta citotoxina, tras ser translocada y fosforilada por la Shp2 se une al dominio SH2 de la tirosina fosfatasa y la activa; dirigiéndose a continuación hacia determinadas tirosinas en el EGFR, causando la desfosforilación de este receptor. EGFR estimula la producción de péptidos antimicrobianos conocidos como  $\beta$ -defensinas, en concreto de la  $\beta$ -defensina humana 3, hBD3, molécula efectora de la inmunidad innata que actúa frente a organismos infecciosos. La desregulación por desfosforilación de EGFR tiene como consecuencia una disminución de la expresión de este péptido y, por lo tanto, de la respuesta inmune, que va a favorecer la persistencia de *H.pylori* en la célula hospedadora <sup>[1, 13]</sup>. (Figura 3-C)

La citotoxina CagA también va a interactuar por medio de un motivo conservado con el dominio intracelular del **receptor del factor de crecimiento de hepatocito**, HFG o c-Met. Esta unión tendrá como consecuencia un incremento de la actividad mitogénica en las células epiteliales gástricas colonizadas por *H.pylori*, por lo que se incrementan la movilidad celular y la invasión, el alargamiento de las células y su adhesión y además se frena la apoptosis, todo ello está relacionado con la aparición de tumores <sup>[13]</sup>. (Figura 3-D)

Por otro lado, CagA también es capaz de interactuar con diversas proteínas celulares sin estar fosforilada, ya que presenta dominios tanto dependientes de fosforilación como independientes para dicha interacción <sup>[13]</sup>. Se conocen hasta 25 ligandos relacionados con su virulencia, desde receptores en el epitelio gástrico hasta intermediarios en rutas de transducción de señales.

CagA no fosforilada puede unirse en el interior de la célula hospedadora al receptor de adhesión intercelular dependiente de calcio, conocido como **E-cadherina**; el dominio intracelular de la E-cadherina interactúa a su vez con componentes de la familia de las cateninas, en particular con  $\beta$ -catenina y catenina p120.

La interacción CagA/E-cadherina perjudica la formación del complejo E-cadherina- $\beta$ -catenina, causando una acumulación  $\beta$ -catenina tanto en el citoplasma como en el núcleo, este exceso de  $\beta$ -catenina a nivel nuclear va a activar el factor de células T/factor potenciador linfoide, TCF/LEF, y el factor de transcripción CDX1, que a su vez, inducirán la expresión de oncogenes como *c-myc* y *cyclin d1* <sup>[13]</sup>. (Figura 3-E)

CagA también induce la expresión aberrante de un marcador de diferenciación intestinal, MUC2, en células epiteliales gástricas, mediante la transcripción del gen *p21*, por lo tanto, esta es otra razón para afirmar que CagA juega un papel importante en el desarrollo de metaplasia intestinal y de cáncer gástrico.

Durante la infección por *H.pylori*, CagA puede interaccionar con el **receptor de la glicoproteína 130**, gp130, activándolo y causando ciertos efectos en las cascadas de señalización SHP2/ERK o JAK/STAT3 en función del estado fosforilado o no de la citotoxina.

CagA, en su forma fosforilada, va a activar a la oncoproteína humana SHP2, estimulando la fosforilación de ERK1/2Map quinasa <sup>[1, 13]</sup>, mientras que CagA en su forma no fosforilada activa predominantemente a STAT3. Por lo tanto, el estado de fosforilación de la citotoxina CagA translocada determina un cambio de señalización entre las vías SHP2/ERK y JAK/STAT3 a través de gp130. (Figura 3-F)

La activación del receptor de la glicoproteína 130 y de las cascadas de señalización tienen un papel crítico en el desarrollo de cáncer gástrico.

La persistencia de *H.pylori* en el organismo hospedador induce la transcripción de ciertos genes derivados del islote regenerador (REG)3 $\gamma$ , en concreto la lectina tipo C, que tiene una actividad bactericida contra bacterias Gram positivas en el intestino. Esto va a facilitar el desarrollo de este microorganismo en competencia con bacterias Gram positivas que compartan el mismo nicho ecológico, la mucosa gástrica.

*H.pylori* es un microorganismo dotado de un gran número de factores de virulencia y uno de los patógenos más estudiados en los últimos años. La interacción continuada y compleja entre factores bacterianos, ambientales, y del hospedador desemboca en el desarrollo de enfermedad, fundamentalmente por su capacidad, como se ha expuesto, de alterar diversos procesos celulares favoreciendo el crecimiento celular descontrolado y el desarrollo de cáncer

## CONCLUSIONES

---

Como hemos podido estudiar en esta revisión bibliográfica sobre los factores de virulencia de *Helicobacter pylori*, nos encontramos ante una bacteria con una gran cantidad de mecanismos que le permiten colonizar la mucosa gástrica y causar un daño al hospedador. De esta manera:

- *H.pylori* utiliza aquellos factores que le permiten sobrevivir y desplazarse en un medio tan agresivo como el estómago, pasando por su unión a receptores presentes en las células epiteliales gástricas para poder colonizar el epitelio y que tenga lugar la translocación de la citotoxina CagA.
- Dicha proteína, tanto en su forma fosforilada como no fosforilada, afecta un gran número de proteínas que forman parte de cascadas de señalización en la célula hospedadora, una red compleja, desembocando todo ello en determinadas alteraciones celulares, como desorganización del citoesqueleto, estimulación de la respuesta inflamatoria y cambios en la proliferación celular.
- Toda esta actividad va a tener graves repercusiones para el organismo hospedador, ya que la presencia de *H.pylori* se asocia, en gran cantidad de casos, a procesos patológicos de diversa gravedad como gastritis, úlcera gástrica y duodenal y procesos cancerosos.
- La patogenicidad de esta bacteria también dependerá de la isoforma de CagA, ya que estudios *in vivo* han mostrado que la isoforma East Asian CagA, por sus características genéticas, es causante de un cuadro patológico más grave que en el caso de la isoforma Western CagA.
- La infección crónica de la mucosa gástrica no significa que su presencia en el ser humano vaya a desencadenar alguno de estos procesos, ya que hay muchas personas que se encuentran colonizadas durante toda su vida y no manifiestan síntomas de infección.
- Por tanto, nos encontramos ante una bacteria que puede dar lugar a situaciones muy diferentes, desde un cuadro asintomático hasta el desarrollo de un cáncer gástrico y con unos factores de virulencia y mecanismos de acción que muestran su gran adaptabilidad al hospedador y su potencial oncogénico.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- <sup>1</sup>Naumann M, Sokolova O, Tegtmeyer N, Backert S. *Helicobacter pylori*: A Paradigm Pathogen for Subverting Host Cell Signal Transmission. *Trends Microbiol.* 2017 Apr; 25(4):316-328.
- <sup>2</sup>Fazeli Z, Alebouyeh M, Rezaei Tavirani M, Azimirad M, Yadegar A. *Helicobacter pylori* CagA induced interleukin-8 secretion in gastric epithelial cells. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench.* 2016 Dec; 9(Suppl1):S42-S46.
- <sup>3</sup>International Agency for Research on Cancer. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 61: 177-240, 1994.
- <sup>4</sup>Garrity GM. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2<sup>nd</sup> Edition, Volume Two.: 1176
- <sup>5</sup>Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomed J.*2016;39(1):14-23.
- <sup>6</sup>Huang Y, Wang QL, Cheng DD, Xu WT, Lu NH. Adhesion and invasion of gastric mucosa epithelial cells by *Helicobacter pylori*. *Front Cell Infec Microbiol.* 2016, 22 vol.6, article 159.
- <sup>7</sup>Wang YH, Lv ZF, Zhong Y, Liu DS, Chen SP, Xie Y. The internalization of *Helicobacter pylori* plays a role in the failure of *H.pylori* eradication. *Helicobacter* 2017, John Wiley & Sons Ltd.
- <sup>8</sup>Püls J, Fischer W, Haas R. Activation of *Helicobacter pylori* CagA by tyrosine phosphorylation is essential for dephosphorylation of host cell proteins in gastric epithelial cells. *Molecular Microbiology* (2002) 43 (4), 961-969.
- <sup>9</sup>Hohlfeld S, Pattis I, Püls J, Plano GV, Haas R, Fischer W. A C-terminal translocation signal is necessary, but not sufficient for type IV secretion of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Molecular Microbiology*, 2006, 59 (5), 1624-1637.
- <sup>10</sup>Matsuo Y, Kido Y, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* Outer Membrane Protein-Related Pathogenesis. *Toxins*, 2017, 9, 101.
- <sup>11</sup>Samuel L. Palframan SL, Kwok T, Gabriel K. Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Front Cell Infec Microbiol.* 2016, 22 vol. 6, 159.

- <sup>12</sup>Backert S, Tegtmeyer. The Versatility of the *Helicobacter pylori* Vacuolating Cytotoxin VacA in Signal Transduction and Molecular Crosstalk. *Toxins*, 2010, 2, 69-92.
- <sup>13</sup>Backert S, Tegtmeyer N. Type IV Secretion and Signal Transduction of *Helicobacter pylori* CagA through Interactions with Host Cell Receptors. *Toxins (Basel)* 2017. 9 (4), 115.
- <sup>14</sup>Eaton KA, Brooks CL, Morgan DR, Krakowka S. Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infect. Immun.* 1991; 59(7):2470-5.
- <sup>15</sup>Eaton, KA, Suerbaum S, Josenhans C, Krakowka S. Colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori* deficient in two flagellin genes. *Infect. Immun.* 1996. 64: 2445-2448.
- <sup>16</sup>KeXu J, Goodwin CS, Cooper M, Robinson J. Intracellular Vacuolization Caused by the Urease of *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis.* 1990. 161 (6): 1302-1304.
- <sup>17</sup>Prats G. *Microbiología y Parasitología Médicas*. 1º Edición. Madrid. Médica Panamericana. 2012.
- <sup>18</sup>Yuan XY, Yan JJ, Yang YC, Wu CM, Hu Y, Geng JL. *Helicobacter pylori* with East Asian-type *cagPAI* genes is more virulent than strains with Western-type in some *cagPAI* genes. *Braz J Microbiol.* 2017, 48 (2): 218-224.
- <sup>19</sup>Miura M, Ohnishi N, Tanaka S, Yanagiya K, Masanori Hatakeyama. Differential oncogenic potential of geographically distinct *Helicobacter pylori* CagA isoforms in mice. *International Union Against Cancer.* 2009.
- <sup>20</sup>Jiménez-Soto LF, Haas R. The CagA toxin of *Helicobacter pylori*: abundant production but relatively low amount translocated. *Scientific Reports.* 2016.
- <sup>21</sup>Wessler S, Gimona M, Riede G. Regulation of the actin cytoskeleton in *Helicobacter pylori*-induced migration and invasive growth of gastric epithelial cells. *Cell Communication and Signaling*, 2011, 9:27.
- <sup>22</sup>Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA and Gastric Cancer: A Paradigm for Hit-and-Run Carcinogenesis and gastric cancer. *Cell Host & Microbe* 15, 2014 Elsevier.

<sup>23</sup>Neišić D, Miller MC, Quinkert ZT, Stein M, Chait BT, Stebbins CE. *Helicobacter pylori* CagA Inhibits PAR1/MARK Family Kinases by Mimicking Host Substrates. *Nat Struct Mol Biol.* 2010 17 (1): 130-132.

<sup>24</sup>Ishikawa S, Ohta T, Hatakeyama M. Stability of *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein in human gastric epithelial cells. *FEBS Letters* 583, 2009: 2414-2418.