

ΔΙΑΛΕΞΗ
ΠΡΟΣΚΕΚΛΗΜΕΝΟΥ ΟΜΙΛΗΤΗ

Ο πολύπλευρος ρόλος των *H. pylori* *CagA effector proteins*

Διονύσιος Σγούρας, Κωνσταντίνος Παπαδάκος,
Beatriz Martinez-Gonzalez, Ανδρέας Μεντής

ΛΟΙΜΟΤΟΞΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΟΥ *H. PYLORI*

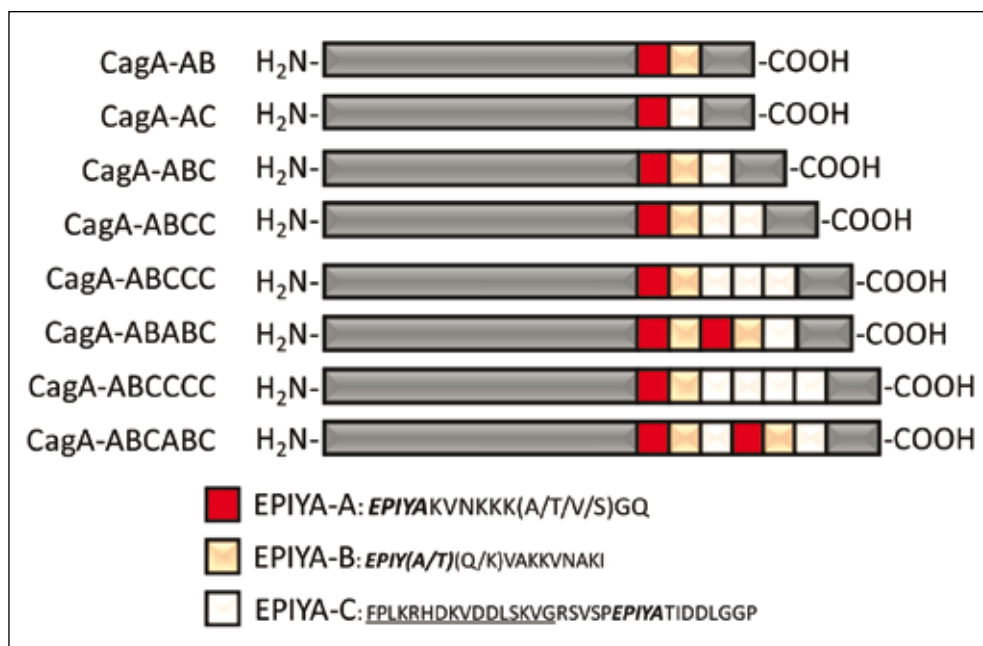
Μία πλειάδα παραγόντων βακτηριακής προέλευσης έχουν ενοχοποιηθεί για την λοιμοτοξική δράση του *H. pylori* (*Hp*) και κατατάσσονται σε παράγοντες παθογένειας που είτε ασκούν άμεση κυτταροτοξική δραστηριότητα, είτε διευκολύνουν την εγκατάσταση της λοίμωξης. Τέτοιοι είναι π.χ. οι πρωτεΐνες των βλεφαριδίων, η ουρεάση, η καταλάση, η πρωτεΐνη ενεργοποίησης των ουδετεροφίλων (HPNAP), οι εξωτερικές πρωτεΐνες φλεγμονής (OipA), η κυτταροτοξίνη VacA (Vacuolating protein A), τα γονίδια του νησιδίου παθογένειας *cag* (cytotoxin-associated genes pathogenicity island – *cagPAI*) και οι συγκολλητίνες όπως SabA, BabA/B, AlpA/B, HopZ κ.λπ.¹⁻⁶ Το **νησίδιο παθογένειας *cagPAI*** αποτελεί ένα συνεχές κομμάτι DNA, μήκους περίπου 40kb, το οποίο μεταφέρεται μέσω οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς, μεταξύ στελεχών και η παρουσία του συνδέεται με αυξημένα επίπεδα κινδύνου για εμφάνιση βαρύτερης μορφής της νόσου.⁷ Τα γονίδια του νησιδίου παθογένειας κωδικοποιούν για ένα εξαιρετικά εξελιγμένο σύστημα μεταφοράς τύπου IV, το οποίο επάγεται κατά την επαφή του βακτηρίου με το επιθηλιακό κύτταρο. Ο ρόλος του είναι η μεταφορά κυτταροτοξικών παραγόντων από το βακτήριο στο εσωτερικό του επιθηλιακού κυττάρου.^{8,9} Ο μοναδικός παράγοντας που μέχρι τώρα έχει δειχθεί ότι μεταφέρεται μέσω του συστήματος

μεταφοράς τύπου IV, είναι η **κυτταροτοξίνη CagA**, μία πρωτεΐνη μεγέθους 125-145 kDa, της οποίας η δομή δεν παρουσιάζει καμία ομοιότητα με οποιαδήποτε άλλη πρωτεΐνη βακτηριακής ή ευκαρυωτικής προέλευσης. Η πρωτεΐνη CagA θεωρείται ο πιο σημαντικός παράγοντας παθογένειας του *Hp*, καθώς η παρουσία και έκφραση της συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης βαριάς μορφής χρόνιας ενεργού γαστρίτιδας, ατροφικής γαστρίτιδας και γαστρικού καρκίνου.¹⁰⁻¹⁴ Περίπου 60-70% των κλινικών στελεχών *Hp* που απομονώνονται από γαστρικές βιοψίες στη Δύση και το σύνολο των στελεχών που προέρχονται από την Ανατολική Ασία εκφράζουν την πρωτεΐνη CagA. Στη χώρα μας, ο επιπολασμός των CagA-οροθετικών φορέων της *Hp* λοίμωξης είναι 77.4%.¹⁵

ΠΡΩΤΕΪΝΗ CagA – ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ - ΦΩΣΦΟΥΡΥΛΙΩΣΗ

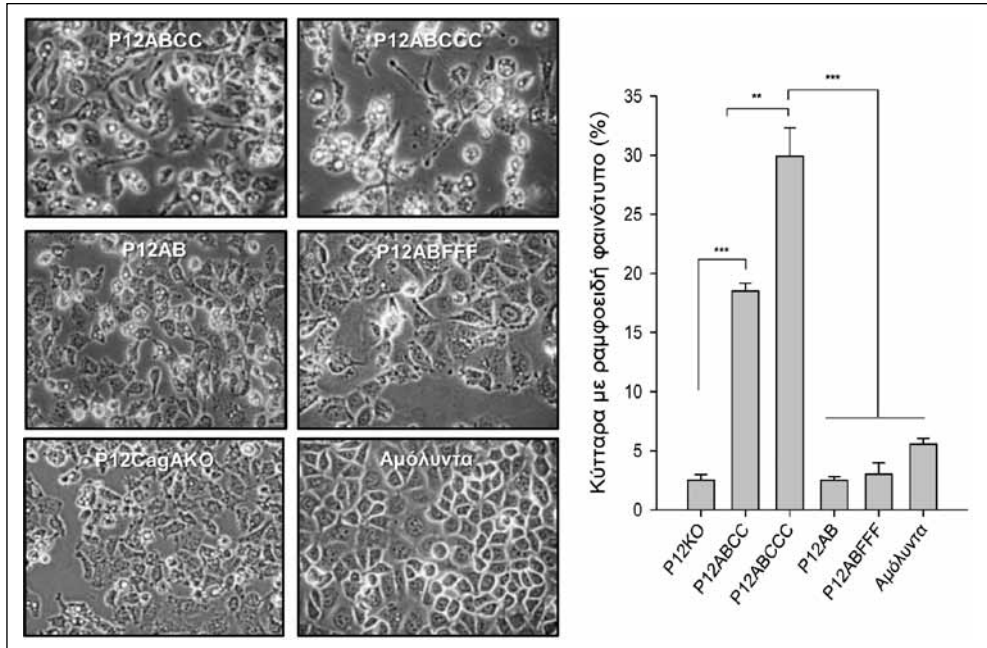
Όπως προαναφέρθηκε, η πρωτεΐνη CagA μεταφέρεται μέσω του συστήματος μεταφοράς τύπου IV εντός των επιθηλιακών κυττάρων όπου φωσφορυλιώνεται από κινάσες του επιθηλιακού κυττάρου σε αμινοξικά κατάλοιπα τυροσίνης που μετέχουν σε επαναλαμβανόμενους πεπτιδικούς σχηματισμούς της μορφής *Γλουταμικό-Προλίνη-Ισολευκίνη-Τυροσίνη-Αλανίνη* (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala, *EPIYA*) στο καρβόξυ-τελικό άκρο της πρωτεΐνης CagA. Οι θέσεις αυτές, σε στελέχη από Δυτικούς πληθυσμούς (Ευρώπη, Β. Αμερική, Αυστραλία), διακρίνονται σε τρεις χαρακτηριστικούς τύπους βάσει της αμινοξικής αλληλουχίας που τις περιβάλλει (*EPIYA-A: EPIYAKVNKKK(A/T/V/S)GQ*, *EPIYA-B: EPIY(A/T)(Q/K)VAKKVNAKI*, *EPIYA-C: FPLKRH DKVDDLKVGSRVSP EPIYATIDDLGGR*).¹⁶ Σε στελέχη από την Ανατολική Ασία παρατηρούνται οι ίδιες θέσεις *EPIYA-A* και *-B*, όχι όμως οι θέσεις *EPIYA-C* οι οποίες αντικαθίστανται από μία επανάληψη της μορφής *EPIYA-D: AINRKIDRINKIASAGKGVGGFSGAGRSASPEPIYATIDFDEANQAG*.¹⁷ Ο αριθμός και τύπος των θέσεων *EPIYA-A* και *-B* παραμένει σταθερός, ενώ των *EPIYA-C*, στα Δυτικού τύπου στελέχη, εμφανίζει υψηλή ποικιλομορφία μεταξύ των στελεχών (Σχήμα 1) και συνδέεται άμεσα με την έκταση των φαινοτυπικών κυτταρικών αλλαγών “ραμφοειδούς φαινοτύπου” (hummingbird phenotype) που επάγονται στα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα μετά από *in vitro* πειραματική λοίμωξη με τα συγκεκριμένα στελέχη *Hp* (Σχήμα 2).

Επιπλέον, ο αριθμός φαίνεται ότι καθορίζει τα επίπεδα τοξικότητας της πρωτεΐνης CagA,¹⁸ αλλά και του στελέχους γενικότερα, δεδομένου ότι ο κίνδυνος για ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου αυξάνει ευθέως ανάλογα με τον αριθμό των *EPIYA-C* θέσεων.¹⁹ Στη χώρα μας έχουν διεξαχθεί εκτεταμένες μελέτες για τη χαρτογράφηση των *EPIYA* θέσεων φωσφορυλίωσης σε στελέχη που απομονώνονται από ενήλικες και παιδιά με συμπτωματική *Hp* λοίμωξη.²⁰⁻²² Οι μελέτες αυτές κατέδειξαν, αφενός ότι CagA-θετικά στελέχη με περισσότερες από δύο επαναλήψεις των θέσεων φωσφορυλίωσης *EPIYA-C* απομονώνονται αποκλειστικά από ενήλικες και όχι από παιδιά.²² Επιπλέον, ενώ στα παιδιά η βαρύτητα των ιστοπαθολογικών δεδομένων δεν συσχετίζεται με την πολυ-



Σχήμα 1. Δομικοί πολυμορφισμοί της πρωτεΐνης CagA ως προς την ύπαρξη επαναλήψεων των θέσεων φωσφορυλίωσης της μορφής EPIYA, που έχουν παρατηρηθεί στον Ελληνικό πληθυσμό.²⁰⁻²² Οι μερικές αλληλουχίες των CagA πρωτεϊνών έχουν τους παρακάτω αριθμούς ένταξης στη βάση πληροφοριών GenBank/EMBL/DDBJ. CagA-AB: AM292594, CagA-AC: AM292592, CagA-ABC: AM292593, CagA-ABCC: AM279297, CagA-ABCCC: AM279290, CagA-ABABC: AM279299, CagA-ABCCCC και CagA-ABCABC (αδημοσίευτα). Η υπογραμμισμένη αλληλουχία FPLKRHDKVDDLSKVG αποτελεί την περιοχή πρόσδεσης πολλαπλών μορίων CagA (CagA multimerization domain), μέσω της οποίας γίνεται η πρόσδεση στο ενεργό κέντρο της MARK2 κινάσης.

μορφικότητα των βακτηριακών λοιμοτοξικών παραγόντων CagA και VacA,²¹ στους ενήλικες αντίθετα, οι πολυμορφισμοί τόσο της VacA όσο και της CagA επηρεάζουν σημαντικά τη βαρύτητα και τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, αντίστοιχα. Ειδικότερα, οι πολυμορφισμοί της CagA ως προς τις θέσεις EPIYA-C, διαπιστώθηκε ότι σχετίζονται σημαντικά με την κλινική εκδήλωση γαστρικής νόσου.²³ Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία μίας λειτουργικής θέσης EPIYA-C (τύποι ABC) στην CagA διαπιστώθηκε ότι αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη πεπτικού έλκους (OR: 4.647, 95% CI: 2.037-10.602, $P=0.015$), ενώ ο κίνδυνος διπλασιάζεται επί εδάφους μικτών λοιμώξεων από ισογονικά στελέχη *Hp* με διαφορετικό αριθμό θέσεων EPIYA-C στην CagA (OR: 9.111, 95% CI: 2.085-39.810, $P<0.001$ αντίστοιχα). Επίσης, σε περιπτώσεις



Σχήμα 2. Προοδευτικά αυξανόμενη επαγωγή ραμφοειδούς φαινοτύπου αναλογικά με τον αριθμό των θέσεων φωσφορυλίωσης EPIYA-C της CagA, σε πειραματική λοίμωξη γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων AGS, με στελέχη Eπ με 2 (P12ABCC) και 3 (P12ABCCC) θέσεις EPIYA-C στην πρωτεΐνη CagA. Αντίθετα, δεν επάγουν ραμφοειδή φαινότυπο, στελέχη που δεν εκφράζουν CagA πρωτεΐνη (P12CagAKO) είτε στελέχη που εκφράζουν CagA με απουσία θέσεων EPIYA-C (P12AB) ή με αδυναμία φωσφορυλίωσής τους (P12ABFFF).

μικτών λοιμώξεων, όπου από το στομάχι ασθενών απομονώνονται δύο ή περισσότερα CagA-θετικά στελέχη με διαφορετικό αριθμό επαναλήψεων EPIYA-C, παρατηρήθηκε εκλεκτική παρουσία των στελεχών με αυξημένο αριθμό EPIYA-C θέσεων στο σώμα και το θόλο, σε σύγκριση με το γαστρικό άντρο.²⁰ Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις συντείνουν στην άποψη, ότι CagA-θετικά στελέχη με αυξημένο αριθμό EPIYA-C επαναλήψεων απομονώνονται συνηθέστερα στο σώμα και το θόλο και η παρουσία τους συνδέεται με την εμφάνιση πανγαστρίτιδας και αυξανόμενου κινδύνου για γαστρικό καρκίνο, ενώ τα στελέχη με περιορισμένο αριθμό EPIYA-C θέσεων εντοπίζονται κυρίως στο άντρο και η παρουσία τους συσχετίζεται με εμφάνιση δωδεκαδακτυλικού έλκους.

Ποιοί είναι, όμως, οι μοριακοί μηχανισμοί που συντείνουν στην αύξηση κινδύνου για καρκινογένεση στο γαστρικό επιθήλιο παρουσία της πρωτεΐνης CagA και ποιά η σημασία της φωσφορυλίωσης της από κινάσες του κυττάρου; Η ενδοκυττάρια

φωσφορυλίωση της CagA πρωτεΐνης αποτέλεσε βασικό στοιχείο για την αρχική αναγνώριση και κλωνοποίηση της, ενώ οι κινάσες που ευθύνονται για την φωσφορυλίωσή της είναι ήδη πολύ καλά χαρακτηρισμένες ογκοπρωτεΐνες²⁴. Ειδικότερα, οι κινάσες της οικογένειας Src, που αναγνωρίστηκαν αρχικά, ως υπεύθυνες για την φωσφορυλίωση της CagA σε θέσεις EPIYA^{25,26} σε υγρή κύτταρα, εμπλέκονται σε μηχανισμούς ελέγχου της λειτουργίας του κυτταροσκελετού, της κυτταρικής διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού. Τα ίδια μόρια όμως έχουν δειχθεί ότι ενέχονται και σε μηχανισμούς καρκινογένεσης. Ομοίως συμβαίνει και με τις κινάσες των οικογενειών c-Abl και Arg, οι οποίες επίσης έχει δειχθεί ότι εμπλέκονται στη φωσφορυλίωση της CagA στις θέσεις EPIYA.^{27,28} Μάλιστα, το *Hp* φαίνεται να μπορεί να ρυθμίζει χρονικά τη δραστηριότητα αυτών των δύο οικογενειών κινασών με ιδιαίτερη επιτυχία. Ενώ οι κινάσες Src δείχνουν να ενεργοποιούνται στα ιδιαίτερα πρώιμα στάδια της λοίμωξης (0.5-2 ώρες) και μετά σταδιακά απενεργοποιούνται²⁹, οι κινάσες Abl είναι συνεχώς ενεργοποιημένες, με ιδιαίτερη όμως δραστηριότητα σε μεταγενέστερα στάδια (2-8 ώρες), πράγμα που υποστηρίζει ένα σενάριο διαδοχικής φωσφορυλίωσης της CagA από αυτές τις κινάσες.²⁷ Ανεξάρτητα όμως από τη φωσφορυλίωσή της, η πρωτεΐνη CagA μετά την είσοδο της στα επιθηλιακά κύτταρα, είτε με διαδικασία πειραματικής λοίμωξης, είτε με διαμόλυνση (transfection), έχει δειχθεί ότι μπορεί να αλληλεπιδρά με πλειάδα παραγόντων που ενέχονται στην ενδοκυττάρια μεταγωγή σήματος και κατ' επέκταση στους μηχανισμούς καρκινογένεσης στο επιθήλιο.³⁰

ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ CagA ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ

A. Επίδραση στη μεταγωγή σήματος μετά από φωσφορυλίωση στις θέσεις EPIYA

Ιστορικά, η πρώτη αλληλεπίδραση μορίου της ενδοκυττάριας μεταγωγής σήματος των επιθηλιακών κυττάρων που παρατηρήθηκε ήταν αυτή της φωσφορυλιωμένης-CagA (pY-CagA) με τη φωσφατάση τυροσίνης Shp2.¹⁶ Έκτοτε διαπιστώθηκε πλειάδα αλληλεπιδράσεων και με άλλα μόρια όπως οι Shp1, Ras GTPase activating protein (RasGAP), phosphoinositide-3 kinase (PI3-kinase), καθώς και με τις πρωτεΐνες προσαρμογής Crk, Grb2 και Grb7 και τις κινάσες τυροσίνης Csk, Src και Abl.^{26,27,31-34} Κοινό δομικό στοιχείο των δέκα ενδοκυττάρων παραγόντων που αλληλεπιδρούν με την CagA είναι η παρουσία θέσεων αλληλεπίδρασης φωσφο-τυροσίνης SH2 (Src homology 2) οι οποίες αποτελούν κύρια δομικά στοιχεία αλληλεπίδρασης μεταξύ των πρωτεϊνών στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Από αυτή την παρατήρηση, εξάγεται ένα πρώτο συμπέρασμα, ότι η CagA μπορεί να διαταράξει την ενδοκυττάρια μεταγωγή σήματος, μιμούμενη φωσφορυλιωμένες σε τυροσίνη πρωτεΐνες του κυττάρου ξενιστή. Αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων αυτού του τύπου είναι η επαγωγή μορφοκινητικών αλλαγών του ραμφοειδούς φαινοτύπου (hummingbird phenotype) (Σχήμα 2). Ο συγκεκριμένος φαινότυπος είναι συνδυασμός επαγωγής

δύο διαδοχικών διαδικασιών, αφενός κυτταρικής κίνησης και αφετέρου κυτταρικής επιμήκυνσης, και εκδηλώνεται ενδεχομένως σαν αποτέλεσμα της δυσλειτουργίας των εστιακών κυτταρικών δεσμών, που ελέγχουν την σύνδεση του επιθηλιακού κυττάρου με την θεμέλια ουσία.^{35,36} Αυτού του είδους οι διαδικασίες δικαιολογούνται, αν και όχι πλήρως, από την παρατηρούμενη ενεργοποίηση της δραστηριότητας της φωσφατάσης Shp2 μέσω της οδού μεταγωγής σήματος Rap1/B-Raf/Erk και της άμεσης αποφωσφορυλίωσης και συνοδού απενεργοποίησης της κινάσης των εστιακών δεσμών (FAK).^{17,37} Παράλληλα, η CagA, μετά από την φωσφορυλίωση της από την κινάση Src, δρα κατασταλτικά έναντι της Src, είτε άμεσα, είτε μέσω της Csk κινάσης που αποτελεί ούτως ή άλλως έναν ανασταλτικό ρυθμιστή της Src.^{29,34} Αυτό οδηγεί στην αποφωσφορυλίωση παραγόντων, όπως η cortactin, η ezrin και η vinculin, που παίζουν ιδιαίτερο ρόλο στις διαδικασίες επιμήκυνσης του κυττάρου. Συμπερασματικά, λοιπόν, η pY-CagA εμπλέκεται σε έναν εντυπωσιακό αριθμό αλληλεπιδράσεων με ενδοκυττάριους παράγοντες που ελέγχουν διαφορετικές οδούς μεταγωγής σήματος και επάγουν φαινόμενα κυτταρικής διασποράς και επιμήκυνσης.

B. Επίδραση στη μεταγωγή σήματος ανεξάρτητα από την EPIYA φωσφορυλίωση

Έως σήμερα, έχουν περιγραφεί έντεκα (11) αλληλεπιδράσεις της πρωτεΐνης CagA, που φαίνεται ότι συνεισφέρουν στην παθογένεια χωρίς όμως να προϋποθέτουν τη φωσφορυλίωσή της στις θέσεις EPIYA. Καταρχήν, η μη-φωσφορυλιωμένη CagA έχει δειχθεί ότι μπορεί να αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη ZO-1, μία από τις πρωτεΐνες του ικριώματος των στενοσυνδέσμων μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων, αλλά και με την διαμεμβρανική πρωτεΐνη των συνεκτικών δεσμών JAM-A, με αποτέλεσμα τον έκτοπο και ατελή σχηματισμό των στενοσυνδέσμων στο σημείο της επαφής του βακτηρίου με το επιθηλιακό κύτταρο.³⁸ Η ενδοκυττάρωση της πρωτεΐνης CagA, όχι όμως και η φωσφορυλίωσή της, έχει δειχθεί ότι οδηγεί σε παρεκκλίνουσα ενεργοποίηση της β-catenin, μέσω αλληλεπίδρασης με την E-cadherin που ελέγχει τους διακυτταρικούς δεσμούς, με αποτέλεσμα την καταστροφή της διακυτταρικής συνοχής του επιθηλίου και απώλεια της κυτταρικής πολικότητας.^{32,39-41} Μη-φωσφορυλιωμένη CagA πρωτεΐνη έχει επίσης δειχθεί ότι αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα ηπατοκυττάρων c-Met (HGF/c-Met), την φωσφολιπάση C-γ (PLC-γ), την πρωτεΐνη προσαρμογέα Grb2 και την κινάση PAR1b/MARK2, με τελικό αποτέλεσμα την επαγωγή πρώιμων σημάτων φλεγμονής και πολλαπλασιασμού, αλλά και καταστροφής των διακυτταρικών δεσμών και απώλεια της κυτταρικής πολικότητας.^{31,42,43} Ιδιαίτερα στην περίπτωση της κινάσης PAR1b/MARK2, που αποτελεί κομβικό μόριο για τον έλεγχο της κυτταρικής πολικότητας, μελέτες με χρήση μεθόδων κρυσταλλογραφίας έχουν δείξει, ότι η CagA προσδέεται επάνω στην PAR1b μέσω περιοχής 16 αμινοξέων που περιλαμβάνει τις θέσεις EPIYA, που είναι γνωστή ως “περιοχή πρόσδεσης πολλαπλών μορίων CagA” (CagA multimerization domain – Σχήμα 1). Ταυτόχρονα, μέσω της

ίδιας περιοχής η CagA, δεσμεύεται και στο ενεργό κέντρο της κινάσης MARK2, αναστέλλοντας την δραστηριότητα της.⁴⁴ Αυτό επιφέρει απορύθμιση του μηχανισμού δημιουργίας της μιτωτικής ατράκτου, με επακόλουθο την απώλεια της κυτταρικής πολικότητας.^{43,45,46} Τέλος, πιο πρόσφατες μελέτες σε πειραματικά κυτταρικά και ζωικά πρότυπα *Hp* λοίμωξης καταδεικνύουν την δυνατότητα της CagA να συντείνει στο μηχανισμό αναστολής της δραστηριότητας του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 κατά την λοίμωξη από *Hp*.⁴⁷

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η πρωτεΐνη CagA είναι ένα από τα πιο ενδιαφέροντα μόρια του *Hp* και αποτελεί μέχρι σήμερα τη μόνη γνωστή πρωτεΐνη που μεταφέρεται από το σύστημα μεταφοράς τύπου IV του *Hp*. Οι έως τώρα έρευνες σε συστήματα πειραματικής λοίμωξης κυτταρικών καλλιιεργειών επιθηλιακών κυττάρων όσο και ζωικών προτύπων, έχουν αναδείξει την σημασία της CagA (φωσφορυλιωμένης ή μη-) στην παθογένεια του *Hp*, μέσω της πλειάδας των μηχανισμών στους οποίους δείχνει να μπορεί να παρεμβάλλεται και να τους απορυθμίζει. Αυτοί οι μηχανισμοί σχετίζονται, όπως προαναφέρθηκε, με βασικές λειτουργίες του κυττάρου όπως ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση, διεργασίες οι οποίες όμως εμπλέκονται και στην καρκινογένεση. Στους μηχανισμούς αυτούς περιλαμβάνονται διαδικασίες κυτταρικής επιμήκυνσης και διασποράς, διαδικασίες που ρυθμίζουν τη στεγανή λειτουργία των διακυτταρικών επιθηλιακών δεσμών και τον καθορισμό της κυτταρικής πολικότητας, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και, τέλος, διαδικασίες ενεργοποίησης των μηχανισμών φλεγμονής που ελέγχονται εν μέρει από τον παράγοντα NF-κB (Paradakos 2012, υπό κατάθεση). Ως προς το ερώτημα, αν πράγματι η φωσφορυλίωση της CagA είναι σημαντική για την παθογένεια του μορίου, τα αποτελέσματα είναι ακόμα αλληλοσυγκρουόμενα. Η εκδήλωση γαστρικών πολυπόδων και αδενοκαρκινώματος σε διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία εκφράστηκε πρωτεΐνη CagA αποκλειστικά στο γαστρικό επιθήλιο, χωρίς όμως την παρουσία *Hp* λοίμωξης, έχει ήδη προσφέρει τη συσχέτιση αιτίου και αιτιατού μεταξύ της CagA και της γαστρικής καρκινογένεσης.⁴⁸ Εξαιρετικά σημαντικό είναι το ότι αυτές οι καρκίνο-γενεσιουργές αλλοιώσεις δεν παρατηρήθηκαν μετά από έκφραση μορφών της πρωτεΐνης CagA μη-ικανών για φωσφορυλίωση. Επιπλέον, ενώ οι μη-ικανές για φωσφορυλίωση μορφές της πρωτεΐνης CagA, μετά από αντικατάσταση των κατάλοιπων τυροσίνης με αντίστοιχα φαινυλαλανίνης, δείχνουν να επάγουν μοριακές διεργασίες που μπορούν να οδηγήσουν σε καρκινογένεση, η παρουσία μη φωσφορυλιωμένων μορφών της CagA μέσα στα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα δεν έχει διαπιστωθεί. Καταλήγοντας, υπάρχουν πια σημαντικές αποδείξεις ότι η πρωτεΐνη CagA μπορεί να δρα σαν μία βακτηριακής προέλευσης ογκοπρωτεΐνη στα θηλαστικά.⁴⁹ Παρ' όλα αυτά υπάρχουν ακόμα σημαντικά ερωτήματα τα οποία περιμένουν απάντηση, σχετικά με τη δυνατότητα αξιοποίησης της παραπάνω γνώσης, αναφορικά

με την CagA στην κλινική διαχείριση των ασθενών με *Hp* λοίμωξη και την ανάπτυξη ενός αλγορίθμου πρόληψης του γαστρικού καρκίνου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Cover TL, Blanke SR. *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:320-332.
2. Graham DY, Yamaoka Y. Disease-specific *Helicobacter pylori* virulence factors: the unfulfilled promise. *Helicobacter* 2000; 5 Suppl 1:S3-9; discussion S27-31.
3. Montecucco C, Rappuoli R. Living dangerously: how *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:457-466.
4. Viala J, Chaput C, Boneca IG, et al. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *Nat Immunol* 2004;5:1166-1174.
5. Peek RM, Jr., Crabtree JE. *Helicobacter* infection and gastric neoplasia. *J Pathol* 2006;208:233-248.
6. Suerbaum S, Josenhans C. *Helicobacter pylori* evolution and phenotypic diversification in a changing host. *Nat Rev Microbiol* 2007;5:441-452.
7. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, et al. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science* 1999;284:1328-1333.
8. Backert S, Selbach M. Role of type IV secretion in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Cell Microbiol* 2008;10:1573-1581.
9. Kwok T, Zabler D, Urman S, et al. *Helicobacter* exploits integrin for type IV secretion and kinase activation. *Nature* 2007;449:862-866.
10. Kuipers EJ, Perez-Perez GI, Meuwissen SG, et al. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the cagA status. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1777-1780.
11. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N et al. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997;40:297-301.
12. Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, et al. cagA-positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. *Int J Cancer* 1998;78:135-139.
13. Shimoyama T, Fukuda S, Tanaka M, et al. CagA seropositivity associated with development of gastric cancer in a Japanese population. *J Clin Pathol* 1998;51:225-228.
14. Vorobjova T, Nilsson I, Kull K, et al. CagA protein seropositivity in a random sample of adult population and gastric cancer patients in Estonia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10:41-46.
15. Apostolopoulos P, Vafiadis-Zouboulis I, Tzivras M, et al. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in Greece: the changing prevalence during a ten-year period and its antigenic profile. *BMC Gastroenterol* 2002;2:11.
16. Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science* 2002;295:683-686.
17. Higashi H, Nakaya A, Tsutsumi R, et al. *Helicobacter pylori* CagA induces Ras-independent morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *J Biol Chem* 2004;279:17205-17216.

18. Argent RH, Kidd M, Owen RJ, et al. Determinants and consequences of different levels of CagA phosphorylation for clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2004;127:514-523.
19. Basso D, Zamboni CF, Letley DP, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology* 2008;135:91-99.
20. Panayotopoulou EG, Sgouras DN, Papadakis KS, et al. CagA and VacA polymorphisms are associated with distinct pathological features in *Helicobacter pylori*-infected adults with peptic ulcer and non-peptic ulcer disease. *J Clin Microbiol* 2010;48:2237-2239.
21. Sgouras DN, Panayotopoulou EG, Papadakis K, et al. CagA and VacA polymorphisms do not correlate with severity of histopathological lesions in *Helicobacter pylori*-infected Greek children. *J Clin Microbiol* 2009;47:2426-2434.
22. Panayotopoulou EG, Sgouras DN, Papadakis K, et al. Strategy to characterize the number and type of repeating EPIYA phosphorylation motifs in the carboxyl terminus of CagA protein in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2007;45:488-495.
23. Panayotopoulou EG, Sgouras DN, Papadakis KS, et al. CagA and VacA polymorphisms are associated with distinct pathological features in *Helicobacter pylori*-infected adults with peptic ulcer and non-peptic ulcer disease. *J Clin Microbiol* 48:2237-2239.
24. Covacci A, Rappuoli R. Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins: Trojan horses for the host cell. *J Exp Med* 2000;191:587-592.
25. Stein M, Bagnoli F, Halenbeck R, et al. c-Src/Lyn kinases activate *Helicobacter pylori* CagA through tyrosine phosphorylation of the EPIYA motifs. *Mol Microbiol* 2002;43:971-980.
26. Selbach M, Moese S, Hauck CR, et al. Src is the kinase of the *Helicobacter pylori* CagA protein in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 2002;277:6775-6778.
27. Tammer I, Brandt S, Hartig R, et al. Activation of Abl by *Helicobacter pylori*: a novel kinase for CagA and crucial mediator of host cell scattering. *Gastroenterology* 2007;132:1309-1319.
28. Poppe M, Feller SM, Romer G et al. Phosphorylation of *Helicobacter pylori* CagA by c-Abl leads to cell motility. *Oncogene* 2007;26:3462-3472.
29. Selbach M, Moese S, Hurwitz R, et al. The *Helicobacter pylori* CagA protein induces cortactin dephosphorylation and actin rearrangement by c-Src inactivation. *Embo J* 2003;22:515-528.
30. Hatakeyama M. Saga of CagA in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Curr Opin Microbiol* 2008;11:30-37.
31. Mimuro H, Suzuki T, Tanaka J, et al. Grb2 is a key mediator of *Helicobacter pylori* CagA protein activities. *Mol Cell* 2002;10:745-755.
32. Suzuki M, Mimuro H, Suzuki T, et al. Interaction of CagA with Crk plays an important role in *Helicobacter pylori*-induced loss of gastric epithelial cell adhesion. *J Exp Med* 2005;202:1235-1247.
33. Selbach M, Paul FE, Brandt S, et al. Host cell interactome of tyrosine-phosphorylated bacterial proteins. *Cell Host Microbe* 2009;5:397-403.
34. Tsutsumi R, Higashi H, Higuchi M, et al. Attenuation of *Helicobacter pylori* CagA x SHP-2 signaling by interaction between CagA and C-terminal Src kinase. *J Biol Chem* 2003;278:3664-3670.

35. Bourzac KM, Botham CM, Guillemin K. *Helicobacter pylori* CagA induces AGS cell elongation through a cell retraction defect that is independent of Cdc42, Rac1, and Arp2/3. *Infect Immun* 2007;75:1203-1213.
36. Moese S, Selbach M, Brinkmann V, et al. The *Helicobacter pylori* CagA protein disrupts matrix adhesion of gastric epithelial cells by dephosphorylation of vinculin. *Cell Microbiol* 2007;9:1148-1161.
37. Tsutsumi R, Takahashi A, Azuma T, et al. Focal adhesion kinase is a substrate and downstream effector of SHP-2 complexed with *Helicobacter pylori* CagA. *Mol Cell Biol* 2006;26:261-276.
38. Amieva MR, Vogelmann R, Covacci A, et al. Disruption of the epithelial apical-junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA. *Science* 2003;300:1430-1434.
39. Bagnoli F, Buti L, Tompkins L, et al. *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:16339-16344.
40. Franco AT, Israel DA, Washington MK, et al. Activation of beta-catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:10646-10651.
41. Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, et al. *Helicobacter pylori* CagA interacts with E-cadherin and deregulates the beta-catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene* 2007;26:4617-4626.
42. Churin Y, Al-Ghoul L, Kepp O, et al. *Helicobacter pylori* CagA protein targets the c-Met receptor and enhances the motogenic response. *J Cell Biol* 2003;161:249-255.
43. Saadat I, Higashi H, Obuse C, et al. *Helicobacter pylori* CagA targets PAR1/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity. *Nature* 2007;447:330-333.
44. Nestic D, Miller MC, Quinkert ZT, et al. *Helicobacter pylori* CagA inhibits PAR1-MARK family kinases by mimicking host substrates. *Nat Struct Mol Biol* 17:130-132.
45. Lu H, Murata-Kamiya N, Saito Y, et al. Role of partitioning-defective 1/microtubule affinity-regulating kinases in the morphogenetic activity of *Helicobacter pylori* CagA. *J Biol Chem* 2009;284:23024-23036.
46. Umeda M, Murata-Kamiya N, Saito Y, et al. *Helicobacter pylori* CagA causes mitotic impairment and induces chromosomal instability. *J Biol Chem* 2009;284:22166-22172.
47. Wei J, Nagy TA, Vilgelm A, et al. Regulation of p53 tumor suppressor by *Helicobacter pylori* in gastric epithelial cells. *Gastroenterology* 139:1333-1343.
48. Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, et al. Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:1003-1008.
49. Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nat Rev Cancer* 2004;4:688-694.