

RESEÑA ANALÍTICA

Principales factores de patogenia en la infección por *Helicobacter pylori*

Lino E. Torres y Boris L. Rodríguez.

Departamento de Microbiología e Inmunología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Apartado Postal 6412, Ciudad de La Habana, Cuba. boris.rodriguez@cnic.edu.cu

Recibido: 4 de octubre de 2007. Aceptado: 5 de diciembre de 2007.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, patogenia, BabA, VacA y CagA.
Key words: *Helicobacter pylori*, pathogenesis, BabA, VacA and CagA.

RESUMEN. La bacteria Gram negativa *Helicobacter pylori* posee la capacidad de colonizar la mucosa gástrica humana e infectar al hospedero durante décadas. La infección con este microorganismo promueve la aparición de múltiples patologías gástricas como gastritis, úlcera gástrica y duodenal, carcinoma del tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) y cáncer gástrico. Sin embargo, solo una fracción de las personas infectadas desarrolla alguna de estas patologías, que son provocadas por la acción combinada de factores genéticos, inmunológicos y bacterianos. Para adaptarse a un nicho tan adverso como es el estómago humano, *H. pylori* posee una sofisticada batería de factores de colonización, como son la ureasa y los flagelos, que le brindan las adaptaciones necesarias para su supervivencia y establecimiento en la mucosa del estomago. Adicionalmente, varias proteínas de la bacteria se han reconocido como factores de patogenia, al estudiar su influencia en la aparición de las lesiones gástricas más severas. Son varios los factores de virulencia que posee este patógeno, pero los tres más relevantes son: la adhesina BabA y las toxinas VacA y CagA. En la última década, numerosos estudios han incrementado considerablemente el conocimiento sobre la función y los mecanismos moleculares de estos factores de virulencia y su influencia en la inducción de enfermedades gastroduodenales en los humanos. Esta revisión constituye un resumen de los principales aportes que se han publicado en los últimos años en el tema de los factores de patogenia de *H. pylori*.

ABSTRACT. The Gram-negative bacterium *Helicobacter pylori* has the capacity to colonize the human gastric mucus and remains within the host during decades. The infection with this microorganism promotes the appearance of multiple gastric pathologies, like gastritis, gastric and duodenal ulcer, mucosal associated lymphoma tumor (MALT) and gastric cancer. Nevertheless, only a fraction of the infected people develops some disease by the combined action of genetic, immunological and bacterial virulence factors. In order to adapt to an adverse niche, the human stomach, *H. pylori* possesses a sophisticated battery of colonization factors, like urease and flagella, which offers it the necessary adaptations for their survival and establishment at the gastric mucosa. Additionally, several proteins of the bacterium have been recognized as pathogenic factors, settling down their influence in the appearance of severe gastric diseases. There are several virulence factors, but the most important are: the BabA adhesin and the VacA and CagA toxins. In the last decade, several studies have significantly increased the knowledge into the function and molecular mechanisms related to virulence factors and their influence in the induction of human gastroduodenal diseases. This revision constitutes a summary of the main contributions published in the last decade related to the subject of *H. pylori* pathogenic factors.

INTRODUCCION

El microorganismo *Helicobacter pylori* posee una morfología bacilar y espirilada, es microaerofílico y coloniza de forma eficiente el estómago humano. Esta bacteria fue aislada por primera vez en 1983 por Marshall y Warren y desde entonces, ha cambiado notablemente la perspectiva clínica de las enfermedades gastroduodenales.¹ Se estima que más del 50 % de la población mundial está infectada con este patógeno, particularmente, en países en vías de desarrollo la tasa de infección sobrepasa el 80 % de la población.² La persistencia de la infección con *H. pylori* puede ocasionar la aparición de diversas patologías como gastritis, úlcera gástrica o duodenal, carcinoma del tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) y cáncer gástrico, por lo anterior es considerado el principal agente etiológico para la mayoría de los desórdenes gastroduodenales^{3,4} y fue declarado en 1994, por la Organización Mundial de la Salud, como agente carcinogénico para el hombre de tipo I.⁵

El patógeno *H. pylori* posee un conjunto de factores de virulencia que le proporcionan múltiples ventajas, convirtiéndolo en un microorganismo muy bien adaptado a su nicho ecológico y con una gran capacidad de supervivencia y multiplicación. Los mecanismos moleculares de varios de estos factores han sido dilucidados y se ha logrado determinar su influencia en los procesos patogénicos que ocurren en la cavidad gástrica. La proteína codificada por el gen A asociado a la citotoxina (CagA) es el principal factor de patogenia de la bacteria, las cepas que portan el gen *cagA* son clasificadas como tipo I y están asociadas con una respuesta inflamatoria tisular más exacerbada que las cepas CagA-negativas.⁶ La proteína CagA en conjunto con la citotoxina vacuolizante (VacA) y la proteína de adhesión a los antígenos de Lewis B (BabA) son los tres factores de patogenia más importantes que posee *H. pylori* (Fig. 1). El principal objetivo de esta revisión fue actualizar el tema de los factores moleculares patogénicos de la bacteria, profundizando en los tres más relevantes.

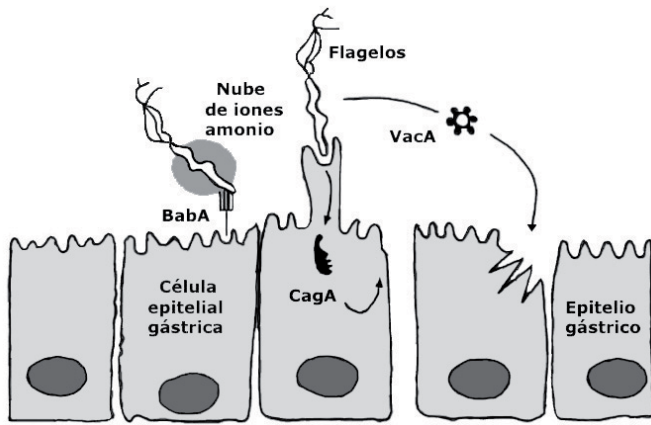


Fig. 1. Principales eventos moleculares que están involucrados en la colonización y patogénesis de la infección por *Helicobacter pylori*, relacionados con su interacción con las células del epitelio gástrico. Se pueden apreciar los flagelos, que permiten el desplazamiento de la bacteria a través de la capa de mucus y la presencia de la nube de iones amonio, producida por la hidrólisis de la urea gracias a la acción de la ureasa, que protege al microorganismo del pH ácido en el lumen estomacal. Además, se visualiza el anclaje a las células del epitelio gástrico a través de la adhesina BabA, la internalización de la toxina CagA a la célula epitelial, a través del sistema de secreción tipo IV y la alteración de la integridad celular por la acción de la citotoxina vacuolizante. (Esta figura constituye una modificación de una imagen publicada con anterioridad).¹⁵

Actividad ureasa

La ureasa es uno de los factores de colonización imprescindibles de *H. pylori*, ya que constituye su principal adaptación a un medio tan hostil como es el jugo gástrico. Esta enzima es secretada en elevadas cantidades y representa alrededor de un 6 % del peso húmedo de la biomasa bacteriana, es además, el segundo microorganismo con mayor actividad ureásica después del *Ureaplasma urealyticum*.⁷ La ureasa cataliza la hidrólisis de urea en amonio y dióxido de carbono y la "nube" de iones amonio que se forma alrededor de la bacteria eleva el pH en el microambiente que la rodea (Fig. 1). La enzima está conformada por seis subunidades de UreA y seis de UreB.⁸ La síntesis de la ureasa es regulada por siete genes contiguos (genes A-H, exceptuando la letra C), que incluyen los que codifican para UreA y UreB, y los que codifican para proteínas accesorias responsables de la inserción del níquel en el sitio activo de la apoenzima.⁹ La actividad ureásica contribuye además, a la toxicidad celular producida por el amonio, adicionalmente, la ureasa actúa como factor quimotáctico, activando a los macrófagos a producir citocinas proinflamatorias.¹⁰ Por otro lado, se han establecido nexos entre la acción de la toxina VacA y la ureasa, puesto que la actividad de la citotoxina VacA se incrementa en presencia de elevadas concentraciones de cloruro de amonio.¹¹

Flagelos

Este patógeno posee de dos a seis flagelos polares, recubiertos con una membrana de composición muy similar a la capa de LPS.¹² El flagelo está formado por la polimerización de dos subunidades proteicas diferentes, las flagelinas A y B (Fla-A y B).¹³ Su papel en el establecimiento de la infección ha sido contundentemente demostrado, puesto que al construir cepas con mutaciones en los genes *flaA* y *flaB*, ellas fueron incapaces de colonizar eficientemente la cavidad estomacal en el modelo animal del cerdo gnotobiótico.¹⁴ Con estos estudios de los flagelos, se ha determinado que la motilidad es otra propiedad

esencial para la colonización de *H. pylori*, que le permite a la bacteria desplazarse a través del mucus gástrico (Fig. 1) y poder establecerse cerca del epitelio del estómago, de esta forma, se protege del pH ácido, más letal en el lumen y accede a las múltiples ventajas que representa ubicarse cerca de las células epiteliales.

Proteína de adhesión a los antígenos de Lewis B (BabA)

La adherencia a las células del epitelio gástrico es otro de los eventos de vital importancia en la infección por *H. pylori*, ya que favorece la persistencia de la infección y estimula mecanismos patogénicos, principalmente, los vinculados a cambios en la morfología celular y a la activación del sistema inmune.¹⁵ La adhesina BabA es una proteína de membrana externa (OMP) codificada por los genes *babA1* y *babA2*, aunque solo el gen *babA2* es funcional, ya que presenta una inserción de 10 pares de bases (pb) que contiene un codón para iniciación de la síntesis de proteína, fragmento que se encuentra ausente en el alelo *babA1*. La proteína BabA presenta una talla de 78 kDa aproximadamente y constituye uno de los principales factores de adhesión de *H. pylori* (Fig. 1).¹⁶ La adhesina BabA interactúa con los antígenos de Lewis B fucosilados que forman parte del glicocalix de la membrana del epitelio gástrico, de esta forma, facilita la adhesión de la bacteria a las células epiteliales, la ocurrencia de este evento depende del grupo sanguíneo de la persona en cuestión, puesto que la afinidad es solamente por el antígeno de Lewis B. La adhesión de la bacteria al tejido epitelial del estómago promueve eventos inflamatorios y daños a las células parietales.¹⁷

El gen *babA* puede estar repetido al menos dos veces en el genoma del microorganismo, todas las cepas de *H. pylori* cuyo genoma ha sido secuenciado presentan una sola copia, mientras que la cepa de referencia CCUG17875, que fue la primera cepa cuyo gen *babA* fue caracterizado incluye los dos alelos *babA1* y *babA2*.¹⁷ El gen *babA* además puede localizarse en varios locis del genoma de la bacteria y en estos otros sitios, se pueden encontrar también genes con mucha homología con *babA* como *babB* y *OMP9* (hopU), con los que comparte zonas de gran homología, dichos genes no realizan ningún aporte en la patogénesis producida por *H. pylori*.¹⁸ El principal papel patogénico de la proteína BabA2 consiste en el efecto sinérgico que presenta con los otros factores de patogenia, ya que optimiza la acción de estos últimos, lo que da lugar a una mayor alteración del tejido epitelial gástrico.

En estudios de pacientes con desórdenes gastroduodenales se ha establecido la correlación de la presencia del alelo patogénico (*babA2*) con la aparición de lesiones premalignas,¹⁹ metaplasia intestinal,²⁰ úlcera duodenal y cáncer gástrico.²¹ La distribución geográfica de cepas portadoras de esta adhesina es variable, en las regiones asiáticas más del 80 % de las cepas son portadoras del gen *babA2*,^{19,22} mientras que en regiones de países occidentales la prevalencia varía entre un 30 y un 60 %.^{20,23}

Citotoxina vacuolizante (VacA)

VacA es una de las principales toxinas de *H. pylori* y en conjunto con BabA y CagA son los tres factores de virulencia que más han sido asociados a la incidencia de enfermedades gástricas severas. VacA es una proteína de secreción que es sintetizada como una protoxina con un peso molecular aproximado de 140 kDa y está conformada por un péptido señal, la toxina madura y un fragmento en su extremo carboxilo terminal que es escindido proteolíticamente.^{24,25} El péptido señal facilita

el paso de la proteína a través de la membrana interna y presenta por lo general de 30 a 33 aminoácidos. El paso de VacA a través de la membrana externa ocurre mediante un sistema de secreción tipo 5 o de proteína auto-transportadora, mecanismo muy similar al presente en otras bacterias Gram negativas.²⁶ Una característica de este sistema de secreción es la abundancia de secuencias aminoácidas con estructura en hoja plegada β en la región carboxilo-terminal del polipéptido, cuyo plegamiento resulta en un dominio de barril β que funciona como un canal por el que atraviesa el resto de la proteína, luego, este fragmento sufre un clivaje proteolítico y el extremo amino terminal del polipéptido es secretado al medio extracelular.²⁷ La proteína madura de 87 kDa conforma oligómeros de alto peso molecular en el medio extracelular que agrupan de 6 a 7 copias de los monómeros, si bien, la mayor parte de esta toxina se encuentra en la forma descrita anteriormente, una parte permanece asociada a membrana.²⁸

Variación en el gen *vacA*

Existen cepas de *H. pylori* que no resultan citotóxicas para la línea celular HELA en ensayos *in vitro*, pues no inducen la formación de vacuolas en las células, no obstante, muchas de estas cepas sí portan el gen *vacA*, por lo que se determinó que la disminución del efecto tóxico de VacA se debía fundamentalmente a variaciones en la región media del gen.²⁹ Específicamente, se encontraron dos regiones que presentan una elevada variabilidad entre cepas. Una de ellas codifica para el péptido señal, sus variantes son s1a, s1b, s1c y s2. La otra región variable es en la parte media del gen, sus alelos son m1 y m2, este último se distingue de m1 por tener la inserción de un fragmento de ADN muy similar a su región precedente, lo que indica que surgió a causa de una transposición, el fragmento adicional codifica para 30 aminoácidos, los que solo estarían en las cepas con el alelo *VacA* m2 y es precisamente, esta variante la que no resulta tóxica para la línea celular HELA.^{26,30} Aunque se había establecido la asociación del alelo m1 con enfermedades gástricas más severas, estudios epidemiológicos han demostrado que ambos alelos se encuentran en cepas de pacientes con patologías nocivas,³¹ además, se ha comprobado que al clonar un gen *vacA* m2 en las células HELA es capaz de causar vacuolización, lo que evidencia que la intoxicación *in vitro* falla en algún paso específico con esta línea celular.³² Los niveles de m1 y m2 varían según la región geográfica, siendo el genotipo m1 más frecuente en Sur América, Portugal y Japón.³³⁻³⁵ En Europa y Norte América cerca del 50 % de las cepas presentan el genotipo m1, aunque existen países en que ambas variantes alélicas se encuentran en proporciones similares, siendo posible la recombinación entre estos dos alelos.³⁶ Apoyando esta última hipótesis, algunos trabajos han publicado el hallazgo de cepas con alelos híbridos de m1 y m2 en infecciones múltiples con cepas de *H. pylori*.^{24,25} Con respecto al péptido señal han sido clasificado en cuatro variantes, de las que se conoce menos su papel en la toxicidad, las evidencias apuntan a que el alelo s2 presenta algún tipo de defecto que disminuye la cantidad de toxina secretada y se ha correlacionado su presencia a patologías más leves como la gastritis.^{24,25} Con respecto a las combinaciones de los alelos de ambas regiones se ha determinado que el genotipo s1m1 presenta mayor actividad vacuolizante que s2m2 y por tanto, s1m1 se asocia con la prevalencia de úlcera péptica y cáncer gástrico.³⁷ La combinación s2m1 prácticamente no se ha reportado.³⁸

Interacción con la célula epitelial

Cada monómero de 87 kDa tiene dos dominios estructurales, p37 y p58 en su extremo carboxilo terminal, esta denominación proviene de la masa molecular que presentan. Los dominios se encuentran unidos por un lazo hidrofílico, que es escindido por medio de proteasas, quedando solo en contacto por interacciones no covalentes.^{39,40} El dominio p58 es clave en la entrada de la toxina madura a la célula epitelial.⁴¹ Aunque ha sido reportado que el principal receptor de este antígeno es una proteína tirosinfosfatasa similar al receptor del factor de crecimiento (RPTP) (Fig. 2), ya que se demostró que la presencia de este receptor era vital en la inducción de úlcera gástrica en un modelo animal de ratón.⁴² Otros estudios indican que VacA puede unirse a la membrana de la célula eucariota sin que medie un reconocimiento específico, pues es capaz de insertarse en membranas lipídicas artificiales sin la presencia de un receptor proteico, al parecer interactúa sobre todo, con balsas lipídicas en las que existe abundancia de colesterol, glicoesfingolípidos y proteínas ancladas a glicosilfosfatidilinositol (Fig. 2),⁴³ adicionalmente, varios autores han reportado que la disminución del colesterol en las membranas afecta la inserción de VacA en ellas.^{44,45} Estudios recientes indican que existe un mecanismo complementario al establecido inicialmente, en el cual la citotoxina puede ser transferida directamente de la membrana de la bacteria a la membrana de la célula epitelial. Adicionalmente, la formación de canales en la membrana citoplasmática de la célula epitelial afecta su propia integridad, permitiendo el flujo de nutrientes al espacio extracelular, lo que constituye una ventaja para la bacteria.⁴⁶

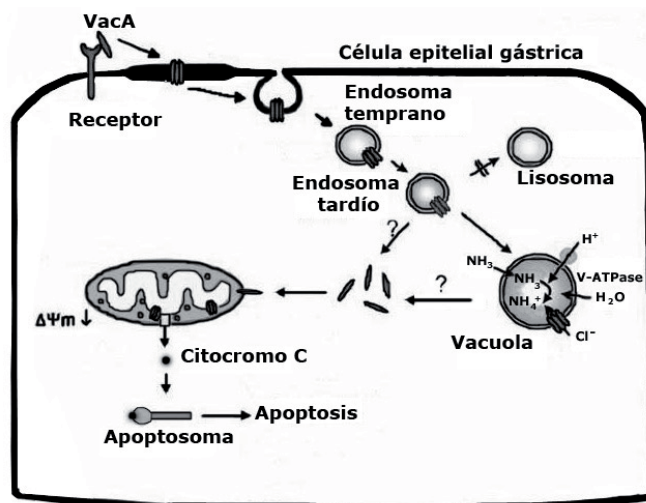


Fig. 2. Esquema de una célula epitelial gástrica, en el que se muestran los principales mecanismos moleculares que induce la citotoxina vacuolizante al entrar en contacto con ella. En la imagen se muestra la interacción de VacA con su receptor; la glicoproteína superficial RPTP, posteriormente la entrada al interior de la célula a través de las vesículas de la vía endocítica. VacA altera el ciclo normal de la endocitosis, impidiendo que el endosoma tardío se fusione con el lisosoma. La vacuolización comienza por la acción indiscriminada de bombas de hidrógeno, que aumentan su actividad por el paso de iones Cl^- a través de VacA al interior de las vesículas. Además se ilustra la afectación que provoca VacA en la membrana mitocondrial, como por ejemplo, cambios en el potencial de membrana ($\Delta\Psi_m$), lo que promueve la liberación del citocromo c, proteína clave en la inducción de apoptosis. (Esta figura constituye una modificación de una imagen publicada con anterioridad).¹¹⁶

Tráfico y formación de vacuolas

La endocitosis de los canales formados por VacA no ocurre por la vía de las vesículas cubiertas de clatrina, sino en una vía dependiente de la integridad del citoesqueleto.⁴⁷ Al insertarse en la membrana, el extremo amino terminal del dominio p37 forma un canal aniónico, que incluye seis monómeros de la toxina madura, dicho canal es dependiente de voltaje y selectivo a iones Cl^- , aunque también permite al paso a otros aniones como HCO_3^- y a la urea (Fig. 2). El canal que forma VacA al insertarse en la membrana de las células eucariota consta además, de aproximadamente 100 aminoácidos del dominio p58.⁴⁸ Pese a que el dominio p37 es imprescindible para la vacuolización ambos dominios deben interactuar para que se pueda formar el canal.^{49,50} La región hidrofóbica del extremo amino terminal de p37 incluye el motivo GXXXG, secuencia típica de dimerización en fragmentos transmembranales, por lo que se especula que la interacción entre los monómeros se establece por la formación de dímeros.^{51,52} Una vez que ocurre la internalización de VacA en la vesícula y la formación del canal, comienza la entrada de aniones al interior de la vesícula, lo que potencia la acción de las bombas de hidrógenos como la ATPasa V, que aumentan la entrada de iones hidronio al interior de las vacuolas, lo que favorece la internalización de bases débiles como el NH_4^+Cl^- , que son osmóticamente activas y promueven un influjo indiscriminado de H_2O , que es lo que finalmente causa la formación de la vacuola (Fig. 2).⁵³ La formación de vacuolas altera las funciones normales que ocurren en la vía endocítica, facilitando la liberación de hidrolasas al medio extracelular, evento que afecta la integridad de las células del epitelio gástrico y además, impide la degradación de ligandos exógenos.⁵⁴

Inducción de apoptosis

Esta proteína es capaz también de unirse a la membrana interna de las mitocondrias, afectando la polarización de la membrana y promoviendo de esta forma, la liberación del citocromo c, que a su vez, desencadena la cascada pro-apoptótica de la caspasa III. Al parecer, los canales de VacA cambian el potencial de membrana de la membrana interna, lo cual la vuelve más permeable, permitiendo así, el paso del citocromo c (Fig. 2).⁵⁵ Resulta interesante que VacA induce apoptosis en linajes celulares específicos, como en las células parietales,⁵⁶ mientras que en linfocitos T no se ha detectado este evento.⁵⁷

Acciones sobre el sistema inmune

Por muchos años, los estudios de la patogenia inducida por la toxina VacA estuvieron enfocados en su efecto sobre las células epiteliales gástricas. No obstante, muy pronto se determinó que esta proteína al atravesar la barrera epitelial es capaz de interactuar con otras células, particularmente, del sistema inmune. La primera evidencia de que VacA interfiere con el funcionamiento del sistema inmune se obtuvo al determinarse que inhibe el procesamiento de péptidos antigénicos en los linfocitos B y por consiguiente, la presentación en el MHC-II a las células T.⁵⁸ También afecta la activación total de los linfocitos T, ya que para activarse, estos deben incrementar la expresión de IL-2 y de su receptor IL-2R α , encontrándose que VacA disminuye la síntesis de ambas moléculas, y que una pequeña porción de bacterias es suficiente para inhibir la secreción por parte de las células T de la citocina IL-2.⁵⁷ Otra de las acciones negativas para el funcionamiento de las células T es el bloqueo de la activación de un factor activador de linfo-

citos T (NFAT), que constituye un factor de transcripción de muchas proteínas claves en el óptimo funcionamiento de los linfocitos T.⁵⁹ Además de bloquear la expresión de citocinas por esta vía, también implica una disminución en los niveles de síntesis de quimocinas y factores de activación de otras células del sistema inmune, lo que causa disfunción en la orquestación de la respuesta inmune integrada.⁵⁷

Proteína codificada por el gen A asociado a la citotoxina (CagA)

CagA es una proteína de 120 a 145 kDa, con una región carboxilo-terminal variable y fue el primer antígeno de *H. pylori* asociado a patologías gástricas. Este polipéptido fue clonado y secuenciado por primera vez en el año 1993 y debe a su nombre a que al inicio se creía que modulaba de alguna forma la acción de la citotoxina vacuolizante, aunque posteriormente se determinó que estos antígenos actúan de forma independiente.^{60,61} Al inicio, el marcado interés en esta proteína se debió a su inmunodominancia en pruebas serológicas. Es una proteína soluble, con marcadas propiedades hidrofílicas y no presenta ningún fragmento de transmembrana. Su región carboxilo terminal se caracteriza por la presencia de repeticiones de un motivo de cinco aminoácidos, cuyo número varía entre las distintas cepas.⁶²

Islote de patogenicidad

Los islotes de patogenicidad (PAI) son bloques de genes presentes en las bacterias y que codifican para elementos de virulencia que por lo general, están vinculados a un único mecanismo patogénico. No todas las cepas de *H. pylori* poseen esta estructura en su genoma, y las que lo portan son clasificadas como cepas tipo I. El fragmento cag PAI contiene aproximadamente 31 genes, de los que en su mayoría codifican para proteínas que forman parte de un sistema de secreción tipo IV, similar al que poseen otras bacterias Gram negativas, cuyo modelo es el del *Agrobacterium tumefaciens*.⁶⁴ El gen *cagA* se encuentra localizado en el extremo 3' del islote de patogenicidad.⁶³ El sistema de secreción tipo IV tiene una estructura molecular equivalente al pili de conjugación, por lo que se plantea que es una adaptación evolutiva que permite a las bacterias liberar factores de virulencia al medio extracelular. En el caso de *H. pylori*, el conglomerado proteico forma una jeringuilla molecular que introduce elementos bacterianos en células eucariotas.⁶⁵ Hasta el momento, solo se ha comprobado la internalización de la proteína CagA y de un péptidoglicano en el citoplasma de las células del epitelio gástrico.^{66,67} Algunas proteínas del islote de patogenicidad promueven además, la secreción de IL-8 por parte de las células del epitelio, aunque se desconoce cuál es el mecanismo exacto.⁶⁸ Para que la proteína CagA sea transportada de forma óptima a la célula epitelial se requiere de la integridad del cag PAI. En investigaciones recientes, se determinó que el peptidoglicano en cuestión, induce la activación del NF-Kb, a través de la interacción con Nod1, una molécula de la célula epitelial, con el subsiguiente incremento de secreción de IL-8.⁶⁹

Efectos de CagA en las células del epitelio gástrico

Se ha demostrado *in vitro* que la interacción de cepas CagA-positivas con células epiteliales provoca en ellas marcados cambios morfológicos, promovidos por reordenamientos del citoesqueleto celular. La célula epitelial al entrar en contacto con la proteína CagA pierde su estructura característica y adquiere un fenotipo disperso

denominado *humming-bird* (en inglés), que se caracteriza por adoptar una morfología similar a una estrella de cinco puntas.⁷⁰ Los diversos efectos en las células epiteliales son causados porque CagA interactúa con diferentes proteínas intracelulares de las células eucariotas.

Una vez dentro de la célula epitelial, la proteína CagA se mantiene próxima a la membrana citoplasmática y puede ser fosforilada por quinasas de la familia de las SRC o LYN, constituyendo el segundo ejemplo de una proteína bacteriana que es fosforilada en residuos de tirosina al ser introducida en células eucariota (Fig. 3).^{71,72} La fosforilación de CagA ocurre en un residuo de tirosina

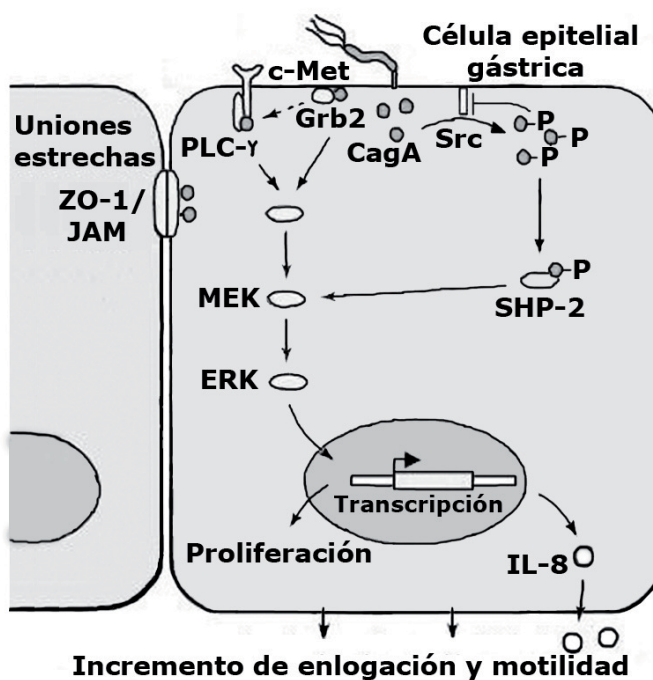


Fig. 3. Esquema de una célula epitelial gástrica, en el que se muestra la interacción de la proteína CagA de *H. pylori*, con múltiples moléculas de una célula eucariota. Cuando la proteína CagA es introducida a las células del epitelio gástrico interactúa, con las moléculas ZO-1 y JAM, afectando la estabilidad de las uniones estrechas entre las células del epitelio. También interactúa con Grb2 y c-Met, dos proteínas que activan cascadas de señalización, como la de las proteínas MEK quinasas. Por otra parte, CagA al entrar a estas células es fosforilada por las quinasas Src, permitiendo la interacción de CagA fosforilada con la fosfatasa SHP-2, la que a su vez, promueve la activación de cascadas de señalización relacionadas con procesos mitogénicos y de proliferación celular. (Esta figura constituye una modificación de una imagen publicada con anterioridad).¹¹⁷

ubicado en sitios puntuales denominados EPIYA por la secuencia aminoacídica que lo conforman (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala).⁶ Estos motivos EPIYA se encuentran en la región carboxilo terminal y existen variantes según los aminoácidos que los circundan, EPIYA-A, B y C, el patrón ABC es el más frecuente en las cepas de los países occidentales, aunque el motivo C se encuentra hasta en tres repeticiones y es fosforilado con una mayor frecuencia que los fragmentos A y B.⁷³ En las cepas asiáticas por el contrario, predomina un sitio denominado EPIYA-D que sustituye al C encontrado en las cepas occidentales y solo se ha encontrado en una copia, siendo el patrón característico asiático ABD (Fig. 4).⁷⁴ Existe también un lazo de retroalimentación negativa, en el que la toxina CagA fosforilada activa a una proteína quinasa que fosforila a la SRC quinasa y la inactiva (Fig. 3), evitando así, una fosforilación desmedida de CagA, lo que provocaría una activación descontrolada de diferentes vías de señalización que pudieran afectar la viabilidad celular.⁷⁵ Dicho mecanismo de regulación negativa contribuye a mantener la integridad del epitelio gástrico, lo que garantiza que pueda ocurrir una infección crónica de este patógeno, sin ocasionar daños letales al hospedero en un tiempo muy reducido, evento que sería también letal para el microorganismo. Por otra parte, CagA interactúa con otras moléculas de las células eucariotas:

La proteína CagA puede afectar la integridad del epitelio gástrico mediante la alteración de las uniones estrechas, entre las células epiteliales. Al penetrar en la célula epitelial, CagA interactúa con la proteína de la zona de ocludina (ZO-1) y con una proteína transmembranal denominada molécula de adhesión de las uniones (JAM) (Fig. 3), ambas proteínas involucradas en el complejo molecular que conforma las uniones estrechas en las células del epitelio gástrico. El efecto sobre este complejo proteico fue determinado *in vitro* empleando la línea celular MDCK y específicamente promueve la migración de la proteína ZO-1 al sitio donde se localiza CagA en la membrana citoplasmática, lo que provoca afectaciones al complejo molecular que forma las uniones estrechas.⁷⁶ Esta acción de la proteína CagA es sumamente nociva, pues afecta la morfología de las células del epitelio, así como su función como barrera de protección, además modifica la polarización de las células epiteliales, ocasionando la disfunción de disímiles mecanismos de transporte y señalización. Todos estos cambios ocurren en el tejido cuando presenta una lesión cancerosa, por lo que la acción de este factor externo potencia la aparición de una lesión maligna. La destrucción de las uniones estrechas pudiera potenciar el establecimiento de un

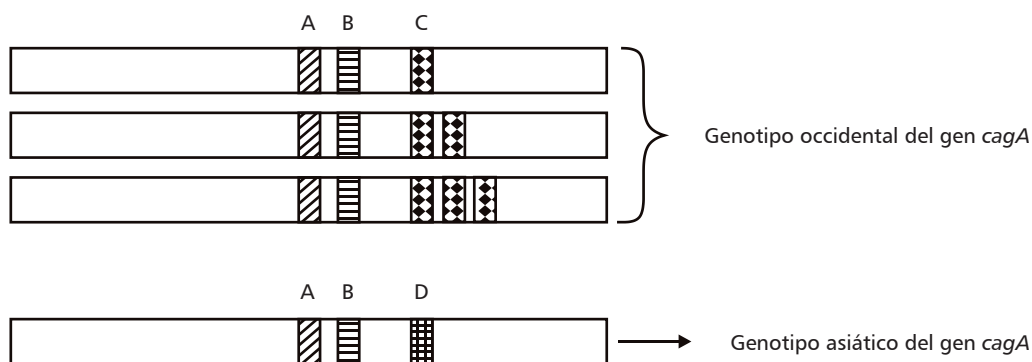


Fig. 4. Estructura genética de la región variable del gen *cagA*. Las letras A, B, C y D representan los cuatro motivos EPIYA respectivamente. Se muestran las diferencias existentes entre el patrón EPIYA predominante en los países occidentales y el patrón de las cepas asiáticas de *H. pylori*.

estado crónico de inflamación en el epitelio, ya que una mayor cantidad de elementos antigénicos pueden atravesar la barrera epitelial contribuyendo a la activación sostenida del sistema inmune.

■ El antígeno CagA al penetrar a la célula epitelial activa una proteína que se une al receptor del factor de crecimiento (Grb-2), la que constituye un segundo mensajero en la cascada de transducción del factor de crecimiento. La proteína Grb-2 al activarse induce cambios morfológicos y la elongación de la célula epitelial por la activación de la vía de las MAP-quinasas (Fig. 3).⁷⁷ Grb-2 además dispara la actividad de diversas vías intracelulares que promueven entre otras acciones un aumento en las secreciones de IL-8 y la sobreexpresión de una metalo proteasa (MMP-7) de la célula epitelial con propiedades tumorogénicas.⁷⁸ De manera que CagA activa los mecanismos de señalización de factores de crecimiento que desencadenan alteraciones en el citoesqueleto y aumentan la elongación y la motilidad celular. Este es uno de los efectos que pueden considerarse como pro-cancerosos, ya que las células tumorales presentan una expresión ilimitada de receptores del factor de crecimiento, mientras que en este caso, la activación crónica de Grb-2 por parte de CagA semeja este tipo de fenómeno. Otra molécula que es activada por esta toxina bacteriana es el c-Met (Fig. 3), que constituye el receptor del factor de crecimiento de los hepatocitos y que se ha vinculado con procesos neoplásicos y de metástasis, e induce efectos similares al Grb-2. Esta acción fue demostrada *in vitro* empleando como modelo la línea celular gástrica AGS.⁷⁹ Ambos resultados sugieren que *H. pylori* modula vías de señalización directamente involucradas en la inducción y desarrollo de tumores.

■ Al ser fosforilada la proteína CagA, también interactúa con una fosfatasa citoplasmática denominada SHP-2 (Fig. 3). Esta enzima contiene dos dominios idénticos que son complementarios a los fragmentos EPIYA fosforilados, la interacción de mayor afinidad ocurre con EPIYA-C, del cual como se vio anteriormente, se pueden encontrar varias repeticiones en una misma molécula de CagA. Esta interacción produce un cambio conformacional en SHP-2 que libera el sitio catalítico con actividad fosfatasa. Las cascadas de señalización que activa la SHP-2 incluyen las vías de las quinasas MEK y quinasas ERK (Fig. 3). La alteración de una o varias de estas cascadas puede provocar un desarrollo celular anormal, caracterizado por reordenamiento del citoesqueleto celular, además de una excesiva proliferación, elongación y motilidad de las células epiteliales y promueve la apoptosis, provocando la aparición del fenotipo *humming-bird* en las células del epitelio.⁸⁰ Recientes estudios han clasificado al gen que codifica para la proteína SHP-2 como un oncogen, por la asociación de mutaciones de él con enfermedades cancerosas como la leucemia.⁸¹ Se ha observado además, que el sitio EPIYA-D de las cepas asiáticas presenta mayor afinidad por la proteína SHP-2, lo que debe influir en la elevada prevalencia de cáncer gástrico registrado entre los pacientes de algunas zonas de Asia.^{82,83} El grado de virulencia de la proteína CagA en las cepas occidentales depende del número de sitios EPIYA-C, lo que hace que también aumente la afinidad de la proteína SHP-2 por CagA,⁸⁴ este hecho está avalado por numerosos estudios epidemiológicos que correlacionan el número de sitios EPIYA-C con la atrofia y el cáncer gástrico en pacientes infectados con cepas CagA-positivas occidentales.⁸⁵

En respuesta a la infección prolongada con este microorganismo se establece un estado inflamatorio crónico que con el tiempo provoca daños irreversibles a las células de la mucosa gástrica. Una de las citocinas clave en la inmunopatogénesis de *H. pylori* es la IL-8, que constituye un potente factor activador de neutrófilos.^{82,83} La inducción de la expresión de IL-8 en las células del epitelio ocurre a través de la activación del NF-Kb, que es un factor de transcripción de citocinas proinflamatorias.^{86,87} En un estudio por mutagénesis, se determinó que la expresión de varios genes incluidos en el cag PAI están involucrados en la estimulación de la expresión de la IL-8 *in vitro*, aunque no se conoce el mecanismo por el que se produce.^{82,83} Sin embargo, han existido discrepancias en cuanto a si CagA está involucrada directamente en la inducción de la IL-8.⁸⁸ En estudios recientes, se ha determinado que efectivamente CagA o fracciones peptídicas de esta proteína son suficientes para inducir la expresión de IL-8 en las células epiteliales gástricas.⁸⁹

Enfermedades asociadas

Varios estudios han revelado que la infección con cepas CagA-positivas incrementa el riesgo a desarrollar úlcera péptica,^{90,88} solo en algunos no se ha encontrado una correlación definitiva entre esta patología y la infección con cepas de *H. pylori* más patogénicas.^{91,92} Por otra parte, se han obtenido evidencias que avalan la gran correlación que existe entre la infección de este patógeno y el desarrollo del cáncer gástrico.^{84,93-95} De hecho, en el Consenso de Maastrich 2005, elaborado por el grupo Europeo para el estudio del *H. pylori* y especies relacionadas, se concluye de forma categórica que se ha establecido la relación entre infección por *H. pylori* y cáncer gástrico y que es un hecho que cepas de *H. pylori* CagA-positivas aumentan aún más el riesgo de desarrollar tumores.⁹⁶ Se estima que el efecto carcinogénico de CagA está relacionado con el efecto pro-apoptótico que presenta, ya que al estimular rondas continuas de replicación del ADN, para mantener constante el número de células epiteliales, aumenta considerablemente la posibilidad de que ocurran mutaciones que promuevan la aparición de células tumorales.^{96,97} Como se analizó anteriormente, la activación descontrolada de la fosfatasa SHP-2 influye considerablemente en la aparición de procesos tumorogénicos en el epitelio gástrico. Recientemente, se demostró en un modelo animal que este antígeno bacteriano promueve la migración al núcleo y la activación la β -catenina, un factor de transcripción de numerosos genes involucrados en diversos mecanismos patogénicos. Algunos de estos genes se encuentran sobre expresados en el carcinoma gástrico y están involucrados en procesos de apoptosis, proliferación y carcinogénesis.⁹⁸ La proteína CagA también puede inhibir la proliferación celular de las células B (independientemente de la fosforilación de la tirosina), y como consecuencia, CagA puede disminuir la respuesta serológica anti-*H. pylori* y promover la aparición de linfoma tipo MALT.⁹⁹

Adicionalmente, se ha llegado al consenso de que la infección con las llamadas cepas triples positivas, es decir, que porten los genes *cagA*, y los alelos *vacAs1* y *babA2* están asociadas con un incremento considerable en el riesgo de desarrollar adenocarcinoma.¹⁰⁰ Este planteamiento está basado en las asociaciones establecidas entre la infección con cepas de estas características y la elevada incidencia en esos pacientes de diversas enfermedades severas del tracto gastro intestinal.^{19,21}

Otros posibles factores de patogenia

Proteína activadora de neutrófilos (NapA)

NapA es una de las proteínas de *H. pylori* más involucradas en la activación del sistema inmune del hospedero, su designación proviene de la capacidad para inducir a los neutrófilos a producir especies reactivas del oxígeno.¹⁰¹ NapA es un oligómero de 150 kDa formado por polipéptidos de 12,5 kDa, el cual después de ser secretado al medio extracelular interactúa con los esfingolípidos de la membrana de los polimorfonucleares y actúa como factor quimotáctico para neutrófilos, mediante la inducción en ellos de moléculas necesarias para su translocación a través del tejido endotelial.^{102,103} Esta proteína además, tiene la capacidad de inducir la activación de los mastocitos, los que garantizan la activación sostenida del sistema inmune¹⁰⁴ y así, propicia la existencia de un proceso inflamatorio crónico que llega a ser muy perjudicial para los tejidos circundantes. De forma que la influencia de NapA sobre el proceso patogénico desencadenado por la infección con *H. pylori* consiste en un estado inflamatorio crónico que promueve el daño tisular con la subsiguiente aparición de las patologías gástricas. La interacción de esta molécula bacteriana con el sistema inmune del hospedero, constituye otro ejemplo de cómo el proceso inflamatorio producido por la infección con *H. pylori* resulta más perjudicial que beneficioso para la erradicación del microorganismo.

Proteína inflamatoria de membrana externa (OipA)

Una de las OMP que ha sido involucrada en los mecanismos de inflamación inducidos por la infección del *H. pylori* es la codificada por el gen *oipA*. Yamaoka y cols. han establecido una correlación significativa entre la presencia del alelo activo de este gen y el desarrollo de úlcera duodenal y cáncer gástrico, así como también, un incremento *in vitro* de los niveles de secreción de interleucina 8 (IL-8),^{105,106} no obstante, otros grupos de investigación no han podido encontrar la relación de diferentes niveles de IL-8 causado por la variabilidad genética de OipA^{107,108} ni con el desarrollo de patologías más severas.¹⁰⁹ Sin embargo, estudios en modelos animales reafirman la relación entre la proteína OipA y la inflamación, ya que al infectar ratones C57 BL/6 con cepas mutantes del gen *oipA*, estos desarrollan una menor inflamación gástrica con menos expresión de citocinas proinflamatorias que los ratones infectados con cepas de *H. pylori* portadoras del gen *oipA* funcional.¹¹⁰ La IL-6 y RANTES son dos de las moléculas propuestas a formar parte de los mecanismos inflamatorios promovidos por OipA, ya que en experimentos *in vitro*, los ARNm de estas moléculas se han incrementado por la interacción con cepas cuyo gen *oipA* es funcional en comparación con aquellas cuyo gen es silente.¹¹¹ Deben realizarse aún varios estudios adicionales que reafirmen la acción de esta proteína en la patogénesis de este microorganismo, sobre todo, asociado a la aparición de enfermedades gastroduodenales en pacientes, para que sea clasificado como un factor de virulencia definitivo.

Gen promotor de la úlcera duodenal (*dupA*)

En los últimos años, se ha identificado un nuevo gen relacionado con los mecanismos patogénicos de *H. pylori*, sobre todo, se ha correlacionado con la úlcera duodenal.¹¹² El gen *dupA* se encuentra presente en el genoma de la cepa de referencia J99 como dos genes que se sobrelapan (*jhp0917* y *jhp0918*), aunque en varios aislados clínicos de *H. pylori* cuyo gen *dupA* ha sido secuenciado, se ha determinado la presencia de un único

marco abierto de lectura (ORF). Por otra parte, *dupA* se ha asociado con la secreción de IL-8 tanto *in vitro* como *in vivo*.¹¹² A pesar de que existen eventos moleculares en los que *dupA* parece estar relacionado con la patogénesis de *H. pylori*, aún falta evidencia experimental y estudios clínicos que lo validen como un factor de patogenia.

Estudios en Cuba

En Cuba, solo se han realizado dos estudios que analizan la prevalencia de un factor de patogenia en cepas de *H. pylori* provenientes de pacientes dispépticos. Específicamente en un estudio serológico desarrollado en conjunto con el Hospital Universitario Español de la Princesa, realizado con 100 pacientes cubanos que padecían de dispepsia se detectó que el 73 % de ellos estaba infectado con *H. pylori*, de los cuales el 81 % fueron seropositivos a CagA. Se encontró además, una mayor frecuencia de úlcera duodenal en los pacientes infectados con cepas CagA-positivas con respecto a los pacientes portadores de cepas CagA-negativas.¹¹³ En otro estudio desarrollado en conjunto con el Hospital Universitario de Pellegrin en Bordeaux, se determinó que de 117 muestras de biopsias gástricas de pacientes cubanos, 83 (70,9 %) fueron positivas para *H. pylori*, lo que indica una elevada prevalencia de la infección. La presencia de cepas CagA-positivas se determinó en 35 pacientes y 31 (88,5 %) portaban cepas CagA-positivas, lo que pone de manifiesto una elevada distribución de cepas tipo I entre los pacientes dispépticos infectados con *H. pylori* incluidos en este estudio. Estos resultados no están en correspondencia con la baja incidencia de cáncer gástrico existente en la población cubana, por lo que en ellos puede haber influido el limitado número de muestras analizadas.¹¹⁴ Dada la amenaza que presupone la infección con este patógeno, resulta necesario continuar los estudios relacionados con él, así como realizar una caracterización más detallada de las cepas cubanas con respecto a sus principales factores de virulencia, las proteínas BabA, VacA y CagA.

CONCLUSIONES

Varias de las proteínas de *H. pylori* inciden en los mecanismos patogénicos inducidos por la infección con esta bacteria. En los últimos años, se han producido notables avances en el conocimiento de los eventos moleculares responsables del desarrollo de diversas patologías gástricas como consecuencia de la infección con dicho patógeno. Existen antígenos cuyo papel en la patogénesis ha sido ampliamente descrito y estudiado a profundidad, como son: las proteínas BabA, VacA y CagA, que desempeñan un papel fundamental en la promoción de diversas patologías gástricas y constituyen factores patogénicos definitivos. La presencia combinada de las variantes más virulentas de los tres genes en las cepas de *H. pylori* aumenta considerablemente, la probabilidad de que un paciente infectado desarrolle algún tipo de enfermedad gástrica, particularmente el cáncer gástrico.

Por todas las implicaciones anteriormente mencionadas, resulta de vital importancia el genotipaje de las cepas circulantes en una región determinada. En Cuba, nunca se ha realizado un estudio de caracterización genotípica de los tres principales factores de patogenia en cepas de *H. pylori*. Por lo que tiene una gran relevancia realizar este tipo de estudio en cepas aisladas a partir de biopsias gástricas de pacientes cubanos. Se deberá también establecer la correlación entre la presencia de los tres principales factores de patogenia en los aislados nacionales de *H. pylori* con la aparición de patolo-

gías gastroduodenales más severas. Tales resultados pudieran ayudar a decidir qué pacientes deben ser tratados y en qué momento, con independencia de la patología que presenten. Es decir, pudiera llegarse al consenso de erradicar el microorganismo en aquellos pacientes que porten las cepas más patogénicas como acción preventiva antes de la aparición de lesiones más severas.

Para abordar la caracterización del grado de patogenicidad de las cepas de *H. pylori*, se deberán desarrollar herramientas analíticas apropiadas y particularmente, las que sean menos invasivas para los pacientes. Dentro de ellas, las técnicas serológicas pueden ser una opción adecuada, sobre todo, aquellas que permitan detectar la presencia de cepas que porten atributos de patogenicidad como el antígeno CagA.

BIBLIOGRAFIA

- Marshall B.J. and Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patient with gastritis and peptic ulceration. **Lancet**, **1**, 1311-1315, 1984.
- Ahuja V. and Sharma M.P. High recurrence rate of *Helicobacter pylori* infection in developing countries. **Gastroenterology**, **123**, 653-654, 2002.
- Suerbaum S. and Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. **N. Engl. J. Med.**, **347**, 1175-1186, 2002.
- Peek R.M., Jr and Blaser M.J. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. **Nat. Rev. Cancer**, **2**, 28-37, 2002.
- World Health Organization. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to human, **61**, 177-240, 1994.
- Figura N. Gleanings on *Helicobacter pylori* infection, antigenic profile of strains, host's immune response. **Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.**, **30**, 40-42, 1998.
- Dunn B.E., Campbell G.P., Perez-Perez G.I. and Blaser M.J. Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*. **J. Biol. Chem.**, **265**, 9464-9469, 1990.
- Austin J.W., Doig P., Stewart M. and Trust T.J. Macromolecular structure and aggregation states of *Helicobacter pylori* urease. **J. Bacteriol.**, **173**, 5663-5667, 1991.
- Labigne A., Cussac V. and Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. **J. Bacteriol.**, **173**, 1920-1931, 1991.
- Atherton J.C., Tham K.T., Peek R.M., Jr., Cover T.L. and Blaser M.J. Density of *Helicobacter pylori* infection *in vivo* as assessed by quantitative culture and histology. **J. Infect. Dis.**, **174**, 552-556, 1996.
- Ricci V., Sommi P., Fiocca R., Romano M., Solcia E. and Ventura U. *Helicobacter pylori* vacuolating toxin accumulates within the endosomal-vacuolar compartment of cultured gastric cells and potentiates the vacuolating activity of ammonia. **J. Pathol.**, **183**, 453-459, 1997.
- Geis G., Suerbaum S., Forsthoff B., Leying H. and Opferkuch W. Ultrastructure and biochemical studies of the flagellar sheath of *Helicobacter pylori*. **J. Med. Microbiol.**, **38**, 371-377, 1993.
- Josenhans C., Labigne A. and Suerbaum S. Comparative ultrastructural and functional studies of *Helicobacter pylori* and *Helicobacter mustelae* flagellin mutants: both flagellin subunits, FlaA and FlaB, are necessary for full motility in *Helicobacter* species. **J. Bacteriol.**, **177**, 3010-3020, 1995.
- Eaton K.A., Suerbaum S., Josenhans C. and Krakowka S. Colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori* deficient in two flagellin genes. **Infect. Immun.**, **64**, 2445-2448, 1996.
- Dubreuil J.D., Giudice G.D. and Rappuoli R. *Helicobacter pylori* interactions with host serum and extracellular matrix proteins: potential role in the infectious process. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, **66**, 617-29, table, 2002.
- Guruge J.L., Falk P.G., Lorenz R.G., Dans M., Wirth H.P., Blaser M.J. *et al.* Epithelial attachment alters the outcome of *Helicobacter pylori* infection. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, **95**, 3925-3930, 1998.
- Ilver D. and Boren T. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. **Science**, **16**, 373-7, 1998.
- Hennig E.E., Allen J.M. and Cover T.L. Multiple chromosomal loci for the babA gene in *Helicobacter pylori*. **Infect. Immun.**, **74**, 3046-3051, 2006.
- Yu J., Leung K.M., Go M.F., Chan M.C., To K.F., Ng E.K. *et al.* Relationship between *Helicobacter pylori* babA2 status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. **Gut**, **51**, 480-484, 2002.
- Zambon C.F., Navaglia F., Basso D., Rugge M. and Plebani M. *Helicobacter pylori* babA2, cagA, and s1 vacA genes work synergistically in causing intestinal metaplasia. **J. Clin. Pathol.**, **56**, 287-291, 2003.
- Gerhard M., Lehn N., Neumayer N., Boren T., Rad R., Schepp W. *et al.* Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **96**, 12778-12783, 1999.
- Sheu B.S., Sheu S.M., Yang H.B., Huang A.H. and Wu J.J. Host gastric Lewis expression determines the bacterial density of *Helicobacter pylori* in babA2 genopositive infection. **Gut**, **52**, 927-932, 2003.
- Podzorski R.P., Podzorski D.S., Wuerth A. and Tolia V. Analysis of the vacA, cagA, cagE, iceA, and babA2 genes in *Helicobacter pylori* from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, **46**, 83-88, 2003.
- Schmitt W. and Haas R. Genetic analysis of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin: structural similarities with the IgA protease type of exported protein. **Mol. Microbiol.**, **12**, 307-319, 1994.
- Yang J.C., Kuo C.H., Wang H.J., Wang T.C., Chang C.S. and Wang W.C. Vacuolating toxin gene polymorphism among *Helicobacter pylori* clinical isolates and its association with m1, m2, or chimeric vacA middle types. **Scand. J. Gastroenterol.**, **33**, 1152-1157, 1998.
- Loveless B.J. and Saier M. H. A novel family of channel-forming, autotransporting, bacterial virulence factors. **Mol. Membr. Biol.**, **14**, 113-123, 1997.
- Henderson I.R., Navarro-Garcia F. and Nataro J.P. The great escape: structure and function of the autotransporter proteins. **Trends Microbiol.**, **6**, 370-378, 1998.
- Cover T.L., Hanson P.I. and Heuser J.E. Acid-induced dissociation of VacA, the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, reveals its pattern of assembly. **J. Cell Biol.**, **138**, 759-769, 1997.
- Cover T.L., Tummuru M.K., Cao P., Thompson S.A. and Blaser M.J. Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among *Helicobacter pylori* strains. **J. Biol. Chem.**, **269**, 10566-10573, 1994.
- Atherton J.C., Cao P., Peek R.M., Jr., Tummuru M.K., Blaser M.J. and Cover T.L. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. **J. Biol. Chem.**, **270**, 17771-17777, 1995.
- Go M.F., Cissell L. and Graham D.Y. Failure to confirm association of vacA gene mosaicism with duodenal ulcer disease. **Scand. J. Gastroenterol.**, **33**, 132-136, 1998.
- Pagliaccia C., de Bernard M., Lupetti P., Ji X., Burroni D., Cover T.L. *et al.* The m2 form of the *Helicobacter pylori* cytotoxin has cell type-specific vacuolating activity. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **95**, 10212-10217, 1998.
- Atherton J.C., Peek R.M., Jr., Tham K.T., Cover T.L. and Blaser M.J. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, **112**, 92-99, 1997.
- Pan Z.J., Berg D.E., van der Hulst R.W., Su W.W., Raudonikienė A., Xiao S.D. *et al.* Prevalence of vacuolating cytotoxin production and distribution of distinct vacA alleles in *Helicobacter pylori* from China. **J. Infect. Dis.**, **178**, 220-226, 1998.
- Shimoyama T., Yoshimura T., Mikami T., Fukuda S., Crabtree J.E. and Munakata A. Evaluation of *Helicobacter pylori* vacA genotype in Japanese patients with gastric cancer. **J. Clin. Pathol.**, **51**, 299-301, 1998.
- Suerbaum S., Smith J.M., Bapumia K., Morelli G., Smith N.H., Kunstmann E. *et al.* Free recombination within *Helicobacter pylori*. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **95**, 12619-12624, 1998.

37. Forsyth M.H., Atherton J.C., Blaser M.J. and Cover T.L. Heterogeneity in levels of vacuolating cytotoxin gene (vacA) transcription among *Helicobacter pylori* strains. **Infect. Immun.**, **66**, 3088-3094, 1998.
38. Letley D.P., Lastovica A., Louw J.A., Hawkey C.J. and Atherton J.C. Allelic diversity of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin gene in South Africa: rarity of the vacA s1a genotype and natural occurrence of an s2/m1 allele. **J. Clin. Microbiol.**, **37**, 1203-1205, 1999.
39. Telford J.L., Ghiara P., Dell'Orco M., Comanducci M., Burroni D., Bugnoli M. *et al.* Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. **J. Exp. Med.**, **179**, 1653-1658, 1994.
40. Nguyen V.Q., Caprioli R.M. and Cover T.L. Carboxy-terminal proteolytic processing of *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. **Infect. Immun.**, **69**, 543-546, 2001.
41. Reytrat J.M., Lanzavecchia S., Lupetti P., de Bernard M., Pagliaccia C., Pelicic V. *et al.* 3D imaging of the 58 kDa cell binding subunit of the *Helicobacter pylori* cytotoxin. **J. Mol. Biol.**, **290**, 459-470, 1999.
42. Fujikawa A., Shirasaka D., Yamamoto S., Ota H., Yahiro K., Fukada M. *et al.* Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*. **Nat. Genet.**, **33**, 375-381, 2003.
43. Molinari M., Galli C., de Bernard M., Norais N., Ruyschaert J.M., Rappuoli R. *et al.* The acid activation of *Helicobacter pylori* toxin VacA: structural and membrane binding studies. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **248**, 334-340, 1998.
44. Schraw W., Li Y., McClain M.S., van der Goot F.G. and Cover T.L. Association of *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA) with lipid rafts. **J. Biol. Chem.**, **277**, 34642-34650, 2002.
45. Patel H.K., Willhite D.C., Patel R.M., Ye D., Williams C.L., Torres E.M. *et al.* Plasma membrane cholesterol modulates cellular vacuolation induced by the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. **Infect. Immun.**, **70**, 4112-4123, 2002.
46. Ilver D., Barone S., Mercati D., Lupetti P. and Telford J.L. *Helicobacter pylori* toxin VacA is transferred to host cells via a novel contact-dependent mechanism. **Cell Microbiol.**, **6**, 167-174, 2004.
47. Ricci V., Galmiche A., Doye A., Necchi V., Solcia E. and Boquet P. High cell sensitivity to *Helicobacter pylori* VacA toxin depends on a GPI-anchored protein and is not blocked by inhibition of the clathrin-mediated pathway of endocytosis. **Mol. Biol. Cell**, **11**, 3897-3909, 2000.
48. De Bernard M., Burroni D., Papini E., Rappuoli R., Telford J. and Montecucco C. Identification of the *Helicobacter pylori* VacA toxin domain active in the cell cytosol. **Infect. Immun.**, **66**, 6014-6016, 1998.
49. Ye D. and Blanke S.R. Functional complementation reveals the importance of intermolecular monomer interactions for *Helicobacter pylori* VacA vacuolating activity. **Mol. Microbiol.**, **43**, 1243-1253, 2002.
50. Torres V.J., McClain M.S. and Cover T.L. Interactions between p-33 and p-55 domains of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin (VacA). **J. Biol. Chem.**, **279**, 2324-2331, 2004.
51. McClain M.S., Iwamoto H., Cao P., Vinion-Dubiel A.D., Li Y., Szabo G. *et al.* Essential role of a GXXXG motif for membrane channel formation by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. **J. Biol. Chem.**, **278**, 12101-12108, 2003.
52. Kim S., Chamberlain A.K. and Bowie J.U. Membrane channel structure of *Helicobacter pylori* vacuolating toxin: role of multiple GXXXG motifs in cylindrical channels. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **101**, 5988-5991, 2004.
53. Montecucco C. and Rappuoli R. Living dangerously: how *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, **2**, 457-466, 2001.
54. Satin B., Norais N., Telford J., Rappuoli R., Murgia M., Montecucco C. *et al.* Effect of *Helicobacter pylori* vacuolating toxin on maturation and extracellular release of procathepsin D and on epidermal growth factor degradation. **J. Biol. Chem.**, **272**, 25022-25028, 1997.
55. Willhite D.C. and Blanke S.R. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin enters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrial membrane permeability changes correlated to toxin channel activity. **Cell Microbiol.**, **6**, 143-154, 2004.
56. Neu B., Randlkofer P., Neuhofer M., Volland P., Mayerhofer A., Gerhard M. *et al.* *Helicobacter pylori* induces apoptosis of rat gastric parietal cells. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, **283**, G309-G318, 2002.
57. Gebert B., Fischer W., Weiss E., Hoffmann R. and Haas R. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. **Science**, **301**, 1099-1102, 2003.
58. Molinari M., Salio M., Galli C., Norais N., Rappuoli R., Lanzavecchia A. *et al.* Selective inhibition of II-dependent antigen presentation by *Helicobacter pylori* toxin VacA. **J. Exp. Med.**, **187**, 135-140, 1998.
59. Boncristiano M., Paccani S.R., Barone S., Ulivieri C., Patrusi L., Ilver D. *et al.* The *Helicobacter pylori* vacuolating toxin inhibits T cell activation by two independent mechanisms. **J. Exp. Med.**, **198**, 1887-1897, 2003.
60. Tummuru M.K., Cover T.L. and Blaser M.J. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. **Infect. Immun.**, **61**, 1799-1809, 1993.
61. Covacci A., Bugnoli M., Petracca R., Macchia G., Massone A., Papini E. *et al.* Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, **90**, 5791-5795, 1993.
62. Tummuru M.K., Cover T.L. and Blaser M.J. Mutation of the cytotoxin-associated cagA gene does not affect the vacuolating cytotoxin activity of *Helicobacter pylori*. **Infect. Immun.**, **62**, 2609-2613, 1994.
63. Covacci A., Telford J.L., Del Giudice G., Parsonnet J. and Rappuoli R. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. **Science**, **284**, 1328-1333, 1999.
64. Christie P.J. Structural and dynamic properties of bacterial type IV secretion systems. **Mol. Membr. Biol.**, **22**, 51-61, 2005.
65. Rohde M., Puls J., Buhrdorf R., Fischer W. and Haas R. A novel sheathed surface organelle of the *Helicobacter pylori* cag type IV secretion system. **Mol. Microbiol.**, **49**, 219-234, 2003.
66. Odenbreit S., Gebert B., Puls J., Fischer W. and Haas R. Interaction of *Helicobacter pylori* with professional phagocytes: role of the cag pathogenicity island and translocation, phosphorylation and processing of CagA. **Cell Microbiol.**, **3**, 21-31, 2001.
67. Tanaka J., Suzuki T., Mimuro H. and Sasakawa C. Structural definition on the surface of *Helicobacter pylori* type IV secretion apparatus. **Cell Microbiol.**, **5**, 395-404, 2003.
68. Fischer W., Puls J., Buhrdorf R., Gebert B., Odenbreit S. and Haas R. Systematic mutagenesis of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8. **Mol. Microbiol.**, **42**, 1337-1348, 2001.
69. Viala J., Chaput C., Boneca I.G., Cardona A., Girardin S.E., Moran A.P. *et al.* Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. **Nat. Immunol.**, **5**, 1166-1174, 2004.
70. Segal E.D., Cha J., Lo J., Falkow S. and Tompkins L.S. Altered states: involvement of phosphotyrosine phosphorylated CagA in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori*. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **96**, 14559-14564, 1999.
71. Stein M., Bagnoli F., Halenbeck R., Rappuoli R., Fantl W.J. and Covacci A. c-Src/Lyn kinases activate *Helicobacter pylori* CagA through tyrosine phosphorylation of the EPIYA motifs. **Mol. Microbiol.**, **43**, 971-980, 2002.
72. Odenbreit S., Puls J., Sedlmaier B., Gerland E., Fischer W. and Haas R. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. **Science**, **287**, 1497-1500, 2000.
73. Selbach M., Moese S., Meyer T.F. and Backert S. Functional analysis of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island reveals both VirD4-CagA-dependent and VirD4-CagA-independent mechanisms. **Infect. Immun.**, **70**, 665-671, 2002.
74. Higashi H., Tsutsumi R., Fujita A., Yamazaki S., Asaka M., Azuma T. *et al.* Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **99**, 14428-14433, 2002.

75. Tsutsumi R., Higashi H., Higuchi M., Okada M. and Hatakeyama M. Attenuation of *Helicobacter pylori* CagA x SHP-2 signaling by interaction between CagA and C-terminal Src kinase. **J. Biol. Chem.**, **278**, 3664-3670, 2003.
76. Amieva M.R., Vogelmann R., Covacci A., Tompkins L.S., Nelson W.J. and Falkow S. Disruption of the epithelial apical-junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA. **Science**, **300**, 1430-1434, 2003.
77. Crawford H.C., Krishna U.S., Israel D.A., Matrisian L.M., Washington M.K. and Peek R.M., Jr. *Helicobacter pylori* strain-selective induction of matrix metalloproteinase-7 in vitro and within gastric mucosa. **Gastroenterology**, **125**, 1125-1136, 2003.
78. Mimuro H., Suzuki T., Tanaka J., Asahi M., Haas R. and Sasakawa C. Grb2 is a key mediator of *Helicobacter pylori* CagA protein activities. **Mol. Cell**, **10**, 745-755, 2002.
79. Churin Y., Al Ghoul L., Kepp O., Meyer T.F., Birchmeier W. and Naumann M. *Helicobacter pylori* CagA protein targets the c-Met receptor and enhances the motogenic response. **J. Cell Biol.**, **161**, 249-255, 2003.
80. Higashi H., Tsutsumi R., Muto S., Sugiyama T., Azuma T., Asaka M. *et al.* SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. **Science**, **295**, 683-686, 2002.
81. Mignon L. Mutations in *PTPN11* implicate the SHP-2 phosphatase in leukemogenesis. **Blood**, **103**, 2325-2331, 2004.
82. Crabtree J.E. and Lindley I.J. Mucosal interleukin-8 and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, **6**, Suppl. 1, S33-S38, 1994.
83. Peek R.M., Jr., Miller G.G., Tham K.T., Perez-Perez G.I., Zhao X., Atherton J.C. *et al.* Heightened inflammatory response and cytokine expression *in vivo* to cagA+ *Helicobacter pylori* strains. **Lab. Invest.**, **73**, 760-770, 1995.
84. Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA—a potential bacterial oncoprotein that functionally mimics the mammalian Gab family of adaptor proteins. **Microbes Infect.**, **5**, 143-150, 2003.
85. Yamaoka Y., El Zimaity H.M., Gutierrez O., Figura N., Kim J.G., Kodama T. *et al.* Relationship between the cagA 3' repeat region of *Helicobacter pylori*, gastric histology, and susceptibility to low pH. **Gastroenterology**, **117**, 342-349, 1999.
86. Sharma S.A., Tummuru M.K., Blaser M.J. and Kerr L.D. Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor-kappa B in gastric epithelial cells. **J. Immunol.**, **160**, 2401-2407, 1998.
87. Nozawa Y., Nishihara K., Peek R.M., Nakano M., Uji T., Ajio K. *et al.* Identification of a signaling cascade for interleukin-8 production by *Helicobacter pylori* in human gastric epithelial cells. **Biochem. Pharmacol.**, **64**, 21-30, 2002.
88. Lamarque D., Gilbert T., Roudot-Thoraval F., Deforges L., Chaumette M.T. and Delchier J.C. Seroprevalence of eight *Helicobacter pylori* antigens among 182 patients with peptic ulcer, MALT gastric lymphoma or non-ulcer dyspepsia. Higher rate of seroreactivity against CagA and 35-kDa antigens in patients with peptic ulcer originating from Europe and Africa. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, **11**, 721-726, 1999.
89. Kim S.Y., Lee Y.C., Kim H.K. and Blaser M.J. *Helicobacter pylori* CagA transfection of gastric epithelial cells induces interleukin-8. **Cell Microbiol.**, **8**, 97-106, 2006.
90. Nomura A.M., Perez-Perez G.I., Lee J., Stemmermann G. and Blaser M.J. Relation between *Helicobacter pylori* cagA status and risk of peptic ulcer disease. **Am. J. Epidemiol.**, **155**, 1054-1059, 2002.
91. Graham D.Y., Genta R.M., Graham D.P. and Crabtree J.E. Serum CagA antibodies in asymptomatic subjects and patients with peptic ulcer: lack of correlation of IgG antibody in patients with peptic ulcer or asymptomatic *Helicobacter pylori* gastritis. **J. Clin. Pathol.**, **49**, 829-832, 1996.
92. Ogura K., Kanai F., Maeda S., Yoshida H., Ogura M., Lan K.H. *et al.* High prevalence of cytotoxin positive *Helicobacter pylori* in patients unrelated to the presence of peptic ulcers in Japan. **Gut**, **41**, 463-468, 1997.
93. Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA as a potential bacterial oncoprotein in gastric carcinogenesis. **Pathol. Biol. (Paris)**, **51**, 393-394, 2003.
94. Wu A.H., Crabtree J.E., Bernstein L., Hawtin P., Cockburn M., Tseng C.C. *et al.* Role of *Helicobacter pylori* CagA+ strains and risk of adenocarcinoma of the stomach and esophagus. **Int. J. Cancer**, **103**, 815-821, 2003.
95. Occhialini A., Marais A., Alm R., Garcia F., Sierra R. and Megraud F. Distribution of open reading frames of plasticity region of strain J99 in *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric carcinoma and gastritis patients in Costa Rica. **Infect. Immun.**, **68**, 6240-6249, 2000.
96. Malfertheiner P., Megraud F. and O' Morain C. Conferencia de Consenso Maastricht 2005: Recomendaciones para el manejo de la infección por *Helicobacter pylori*. **Business Briefing European Gastroenterology Review**, 2005.
97. Correa P. A model for gastric cancer epidemiology. **Lancet**, **2**, 58-60, 1975.
98. Fox A.T., Israel D.A., Washington M.K., Krishna U., Fox J.G., Rogers A.B. *et al.* Activation of beta-catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **102**, 10646-10651, 2005.
99. Umehara S., Higashi H., Ohnishi N., Asaka M. and Hatakeyama M. Effects of *Helicobacter pylori* CagA protein on the growth and survival of B lymphocytes, the origin of MALT lymphoma. **Oncogene**, **22**, 8337-8342, 2003.
100. Prinz C., Schwendy S. and Volland P. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: shifting the global burden. **World J. Gastroenterol.**, **12**, 5458-5464, 2006.
101. Satin B., Del Giudice G., Della B., V. Dusi S., Laudanna C., Tonello F. *et al.* The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor. **J. Exp. Med.**, **191**, 1467-1476, 2000.
102. Teneberg S., Miller-Podraza H., Lampert H.C., Evans D.J., Jr., Evans D.G., Danielsson D. *et al.* Carbohydrate binding specificity of the neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori*. **J. Biol. Chem.**, **272**, 19067-19071, 1997.
103. Evans D.J., Jr., Evans D.G., Takemura T., Nakano H., Lampert H.C., Graham D.Y. *et al.* Characterization of a *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein. **Infect. Immun.**, **63**, 2213-2220, 1995.
104. Montemurro P., Nishioka H., Dundon W.G., D Bernard M., Del Giudice G., Rappuoli R. *et al.* The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a potent stimulant of mast cells. **Eur. J. Immunol.**, **32**, 671-676, 2002.
105. Yamaoka Y., Kikuchi S., El Zimaity H.M., Gutierrez O., Osato M.S. and Graham D.Y. Importance of *Helicobacter pylori* oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production. **Gastroenterology**, **123**, 414-424, 2002.
106. Yamaoka Y., Ojo O., Fujimoto S., Odenbreit S., Haas R., Gutierrez O. *et al.* *Helicobacter pylori* outer membrane proteins and gastroduodenal disease. **Gut**, **55**, 775-781, 2006.
107. Brandt S., Kwok T., Hartig R., König W. and Backert S. NF-kappaB activation and potentiation of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. **Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.**, **102**, 9300-9305, 2005.
108. Ando T., Peek R.M., Jr., Lee Y.C., Krishna U., Kusugami K. and Blaser M.J. Host cell responses to genotypically similar *Helicobacter pylori* isolates from United States and Japan. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, **9**, 167-175, 2002.
109. De Jonge R., Pot R.G., Loffeld R.J., van Vliet A.H., Kuipers E.J. and Kusters J.G. The functional status of the *Helicobacter pylori* sabB adhesin gene as a putative marker for disease outcome. **Helicobacter**, **9**, 158-164, 2004.
110. Yamaoka Y., Kita M., Kodama T., Imamura S., Ohno T., Sawai N. *et al.* *Helicobacter pylori* infection in mice: Role of outer membrane proteins in colonization and inflammation. **Gastroenterology**, **123**, 1992-2004, 2002.
111. Lu H., Wu J.Y., Kudo T., Ohno T., Graham D.Y. and Yamaoka Y. Regulation of interleukin-6 promoter activation in gastric epithelial cells infected with *Helicobacter pylori*. **Mol. Biol. Cell**, **16**, 4954-4966, 2005.
112. Lu H., Hsu P.I., Graham D.Y., Yamaoka Y. Duodenal ulcer promoting gene of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, **128**, 833-848, 2005.
113. Valmaseda T., Gisbert J.P., Paniagua M. and Pajares J.M. *Helicobacter pylori* CagA antibodies in various gastroduodenal diseases from 2 different populations. **Med. Clin. (Barc.)**, **118**, 90-93, 2002.

114. Miguel González-Carbajal Pascual. *Helicobacter pylori* ¿el tercer dogma?, (*Helicobacter pylori* infection in Havana, Cuba. Prevalence and CagA status of the strains. Comunicación personal al autor del libro), Editorial Autores Productores Asociados, Madrid, 122, 2003.
115. Covacci A. and Rappuoli R. *Helicobacter pylori*: after the genomes, back to biology. **J. Exp. Med.**, 197, 807-811, 2003.
116. Gebert B., Fischer W. and Haas R. The *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin: from cellular vacuolation to immunosuppressive activities. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.**, 152, 205-220, 2004.
117. Rieder G., Fischer W. and Haas R. Interaction of *Helicobacter pylori* with host cells: function of secreted and translocated molecules. **Curr. Opin. Microbiol.**, 8, 67-73, 2005.



CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Ministerio de Educación Superior de la República de Cuba

OFERTAS DOCENTES

El Departamento de Postgrado del Centro Nacional de Investigaciones Científicas atiende las solicitudes docentes específicas que necesite un cliente relacionadas con los temas siguientes:

- 📖 *Tecnologías para la fabricación de equipos médicos de última generación.*
- 📖 *Tecnología láser en cirugía.*
- 📖 *Equipos médicos para el diagnóstico de enfermedades.*
- 📖 *Equipos médicos para el diagnóstico microbiológico.*
- 📖 *Aspectos generales sobre la ozonoterapia. Equipos médicos para ozonoterapia.*
- 📖 *Equipos para el tratamiento de agua y aguas residuales de las instalaciones hospitalarias y farmacéuticas.*
- 📖 *Gestión ambiental.*
- 📖 *Control de la calidad en laboratorios de ensayo.*
- 📖 *Bioética: un puente sobre educación y diversidad.*
- 📖 *Condiciones generales acerca de la metodología en la investigación científica.*
- 📖 *La Didáctica y sus componentes: herramienta para la formación de investigadores.*

Los cursos pueden negociarse en forma de Seminario-Taller (con una duración promedio de 1 semana). Se incluye en la cuota de inscripción la entrega de información sobre el Seminario-Taller en formato digital y recorridos por centros de investigación y producción relacionados con los temas del curso contratado.

Los idiomas de trabajo pueden ser: Español, Inglés, Francés o Ruso.

El programa contempla visitas opcionales preseleccionadas a lugares turísticos, históricos y económicos de Cuba con un módico costo adicional.

El transporte aéreo, el alojamiento, la alimentación y el transporte interno se contratan a través de una económica oferta para este tipo de estudiantes y depende del destino hacia Cuba y el número de estudiantes.

El pago es en efectivo en el momento de la matrícula en pesos convertibles cubanos (CUC) o su equivalente en dólares norteamericanos. Al profesor o estudiante que organice o venga al frente de un grupo, se le exige de cuota de inscripción.

Al iniciar la solicitud de un curso o su prematrícula es necesario enviar mensaje electrónico con los datos siguientes: Nombre y apellidos, especialidad, institución de trabajo, dirección del lugar de trabajo, código postal, ciudad y país de residencia. Además, teléfonos, fax y correo electrónico.

Para mayor información:

Dr. Pável Díaz González de Mendoza, Director de Capital Humano.

Teléfonos: (53) 7 208 2553; Fax: (53) 7 208 0497. Correo electrónico: pavel.diaz@cnic.edu.cu

Lic. Luis Delgado Pérez, Jefe de Departamento de Relaciones Internacionales.

Teléfono (53) 7 208 5277. Correo electrónico: rrii@cnic.edu.cu

Dra. Gisela M. Cañedo Iglesias, Jefa del Departamento de Docencia.

Teléfono (53) 7 208 5277. Correo electrónico: dpto.postgrado@cnic.edu.cu

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Avenida 25 No.15202 esquina a Calle 158, Playa, Apartados Postales 6412 y 6414, Código Postal 11600, Ciudad de La Habana, Cuba.