

Infección por *Helicobacter pylori* y apoptosis de las células epiteliales de la mucosa gástrica

D. Olivares, J. P. Gisbert y J. M. Pajares

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

ABREVIATURAS

NF- κ B: factor nuclear κ B; TNF- α : factor de necrosis tumoral- α ; DD: death domain (dominio de la muerte); FADD: dominio de la muerte asociado a Fas; FasL: ligando del receptor Fas; TNFR: receptor de TNF; TRADD: dominio de la muerte asociado a TNFR; TRAF: factor asociado a TNFR; COX: ciclooxigenasa; PG: prostaglandina; iNOS: óxido nítrico sintasa inducible; NO: óxido nítrico; *MDR-1*: gen de resistencia a múltiples fármacos; IL: interleucina; EGF: factor de crecimiento epitelial; IGF: factor de crecimiento similar a la insulina; HGF: factor de crecimiento de hepatocitos; PI-3 kinasa: fosoinositol-3 kinasa, RIP: proteína interactiva de receptores, SOD: superóxido dismutasa, MPT: poro de transición mitocondrial, Apaf-1: factor de activación de proteasas apoptóticas, MHC: complejo principal de histocompatibilidad, TGF- α : factor de crecimiento transformante- α , ROS: especies reactivas del oxígeno, MAPK: proteínas kinasas activadas por mitógenos, AINE: antiinflamatorios no esteroides.

INTRODUCCIÓN

La apoptosis fue inicialmente descrita por sus características morfológicas, incluyendo un encogimiento celular, disrupción de la membrana plasmática, condensación de la cromatina y una rotura en fragmentos discretos del DNA nuclear (1-3). Es un programa de muerte celular genéticamente dirigido, que puede ser interrumpido por mutaciones. De hecho, las mutaciones en rutas apoptóticas contribuyen a un número de enfermedades humanas, desde desórdenes neurodegenerativos hasta tumores (4).

Otros tipos de muerte celular

Aunque la apoptosis es una muerte celular programada, no todas las muertes programadas son apoptóticas. Otras respuestas programadas contribuyen a la eliminación de células potencialmente cancerosas. La senescencia es un programa irreversible de parada del ciclo celular

con unas características propias, que está interrumpido en algunos tumores. Ciertos estímulos pueden inducir fenotipos sugerentes de senescencia, incluyendo activación de oncogenes mitógenos o radiación ionizante (5-8). Por ejemplo, un acortamiento excesivo de las secuencias terminales del DNA o telómeros, que puede producirse de manera natural en cada ciclo de replicación, provocaría una inestabilidad cromosómica, activando la parada del ciclo celular para evitar posibles mutaciones (9), conduciendo a un programa común de muerte celular.

Al contrario que la apoptosis, en la que la célula toma parte activa en su propia destrucción, en la necrosis las células sufren lisis por las citoquinas producidas por las células inflamatorias. Si se realiza una electroforesis con los restos nucleares de células muertas por necrosis se observa un patrón difuso, al ser los fragmentos de DNA de un espectro continuo. Sin embargo, los restos nucleares de células que mueren por apoptosis ofrecen un patrón en bandas salteadas, como peldaños de una escalera, denominado patrón *ladder*, como muestra inequívoca de que el proceso de muerte que se analiza es apoptótico.

H. pylori y apoptosis

Por otra parte, la infección de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* puede afectar al balance normal entre la proliferación gástrica epitelial y la muerte por apoptosis, desregulando el ciclo celular normal y conduciendo en primera instancia a procesos de gastritis. Estos pueden convertirse en atrofia gástrica, y posteriormente en metaplasia, displasia y cáncer gástrico (10). La evolución de este proceso se correlaciona con una marcada disminución en la tasa apoptótica en los primeros estadios (gastritis y atrofia) y una respuesta proliferativa por parte del hospedador desmedida en los estadios más avanzados (metaplasia y displasia), que puede culminar en un proceso canceroso. Por tanto, la determinación de los valores predictivos de marcadores genéticos y bioquímicos inmediatamente antes de la erradicación de *H. pylori*, y el seguimiento a largo plazo de los pacientes con lesiones preneoplásicas gástricas, puede ser de ayuda para el establecimiento de opciones terapéuticas preventivas.

Objetivo

El objetivo de este artículo es revisar los principales eventos implicados en la apoptosis, sus causas tanto a nivel molecular como celular, así como sus consecuencias patológicas, centrando la atención en la apoptosis provocada por *H. pylori* en las células epiteliales de la mucosa gástrica y en el tipo de cepa bacteriana.

GENES IMPLICADOS EN LA APOPTOSIS

La clonación y caracterización del oncogén *bcl-2* estableció la importancia de la apoptosis en el desarrollo de tumores (11). Bcl-2 promueve la supervivencia celular bloqueando la muerte celular programada (12-14). En ratones transgénicos, la sobreexpresión de Bcl-2 promueve una linfoproliferación y acelera la linfomagénesis inducida por c-Myc (13,15). Junto con Bcl-2, Bcl-XL es un potente supresor de la muerte celular, que es sobreexpresado en algunos tipos de tumor (16). Se ha observado que las tasas de inmunoreactividad de Bcl-2 en glándulas normales, metaplasia, adenoma y adenocarcinoma son del 0, 77, 38 y 11% respectivamente, sugiriendo una sobreexpresión de Bcl-2 en lesiones premalignas y represión tras el cambio maligno, siendo responsable de los eventos tempranos de la secuencia cancerosa (17).

Por otra parte, p53 fue el primer gen supresor de tumores descrito asociado a apoptosis. En la mayoría de tumores humanos hay mutaciones en el gen p53, incrementando la viabilidad y la inestabilidad cromosómica (18). La disrupción de varios efectores de la proteína p53 (p. ej. *bax*, *apaf-1* y *casp-9*) puede promover la transformación oncogénica y el desarrollo tumoral (19-21). Se ha observado que la proteína p53 mutada activa los promotores de los genes *Multi Drug Resistance Gene-1 (MDR-1)*, *c-myc*, *interleucina-6 (IL-6)*, *epithelial growth factor (EGF)* y el *insuline-like growth factor-II (IGF-II)*, todos ellos relacionados con el incremento en la proliferación celular. Además, varios componentes previos y posteriores de la ruta de p53 (p. ej. Mdm-2, ARF y Bax) también suelen estar mutados en tumores humanos (18).

La proteína p53 salvaje también está implicada directa o indirectamente en la regulación de genes relacionados con factores de crecimiento, en la regulación de proteínas formadoras del citoesqueleto, en la de genes implicados en la adhesión celular, en la parada del ciclo celular, en la represión de genes del metabolismo celular y en el mantenimiento de la integridad cromosómica tras daños en el DNA (22). Se han llevado a cabo estudios usando ratones defectivos en p53 que demostraron que la proteína p53 endógena podría participar en la apoptosis. También se observó que p53 era necesaria en la muerte celular inducida por radiación en el timo, pero no en la inducida por glucocorticoides (23,24). Así, el papel de la proteína p53 en la apoptosis está indirectamente unido al daño en el DNA y es dependiente del estímulo (radiación) y del teji-

do (timocitos). Entre los estímulos que pueden activar a la proteína p53 para promover la apoptosis, se encuentran la hipoxia y los oncogenes mitógenos. Si ocurren mutaciones en alguno de los genes relacionados con el cáncer, pueden suprimir la apoptosis. Por ejemplo, el malfuncionamiento de la ruta del receptor Fas/CD95, que controla el número de células del sistema inmune eliminándolas por apoptosis, puede conducir a desórdenes linfoproliferativos e incluso cáncer (25).

Otra ruta crítica implica la señalización a través de la fosfoinositol-3 (PI-3) kinasa, la cual es activada por Ras y reprimida por el supresor de tumores PTEN. La activación de Ras y la pérdida de PTEN son usuales en tumores humanos (26).

Hay una variedad de señales que disparan la apoptosis. Entre los desencadenantes extracelulares se incluyen la depleción de factores de crecimiento, hipoxia, radiación y pérdida de interacción célula-matriz. Entre los internos están el daño en el DNA producido por defectos en los puntos de control del ciclo celular, por toxinas endógenas, malfuncionamiento de la telomerasa (el enzima encargada de replicar los telómeros) o por señales proliferativas inapropiadas producidas por mutaciones oncogénicas (27). En algunos casos una señal apoptótica contrarresta otra antiapoptótica. Por ejemplo, IGF-I promueve la supervivencia celular a través de la ruta de la PI-3 kinasa, y la depleción de IGF-I u otros factores de crecimiento pueden disparar una "muerte por carencia" (28). En contraste, otros estímulos implican verdaderos factores proapoptóticos; como ejemplo, algunas formas de estrés celular pueden activar a la proteína p53, la cual promueve la apoptosis a través de moléculas como Bax, una proteína proapoptótica de la familia Bcl-2 (20,21,29).

MECANISMOS DE APOPTOSIS

Las rutas de apoptosis mejor conocidas son las que se inician con los "receptores de muerte", incluyendo Fas/CD95 y TNFR1 y 2. La unión del TNF- α (*tumoral necrosis factor*) con su receptor TNFR1, produce un reclutamiento de moléculas mensajeras TRADD (TNFR *Death Domain*) a través de interacciones proteicas conocidas como "dominios de la muerte" (*Death Domain, DD*) intracelulares. Si TRADD recluta a RIP (*receptor interacting protein*) y al factor asociado a TNFR 2 (TRAF2) se induce la activación del factor nuclear κ B (NF- κ B), el cual suprime la apoptosis inducida por TNF- α (30). En cambio, el reclutamiento de FADD (*Fas-associated death domain*) por Fas o por TNFR1 (en este último caso también a través de TRADD) resulta en apoptosis, a través de la activación de la proteasa caspasa-8, iniciando una cascada de proteasas que conducen a la apoptosis (31). Las caspasas son cisteín-proteasas que se expresan como proenzimas inactivas, las cuales se asocian con efectores que permiten su activación y cuya función es cortar selectivamente proteínas por un residuo de aspartato (32,33).

Algunas citocinas o los daños en el DNA son señales para la muerte celular a través de las mitocondrias. Esta ruta es el objetivo de varias mutaciones oncogénicas que afectan al funcionamiento de miembros de la familia Bcl-2. Estos pueden modular la función mitocondrial a través del poro de transición (MPT), cuya apertura, inducida por TNF, conduce a un incremento brusco en la permeabilidad de la membrana mitocondrial al Ca^{2+} , liberando el citocromo-c (34). El citocromo-c citosólico puede interactuar con el factor de activación de proteasas apoptóticas (Apaf-1) y con la procaspasa-9 para iniciar una cascada de proteasas conduciendo a la apoptosis (35-37).

Ciertas moléculas mensajeras alteran la frecuencia con la cual señales proapoptóticas inducen apoptosis. Por ejemplo, citocinas como la IL-6 pueden suprimir la apoptosis inducida por p53 (38).

Por otra parte, la ruta de la PI-3 kinasa está implicada en la supervivencia celular vía receptores de citocinas extracelulares, los cuales activan una cascada de kinasas, implicando a la PI-3 kinasa y conduciendo a la fosforilación e inactivación de moléculas proapoptóticas como Bad (otro miembro de la familia Bcl-2) y de la caspasa-9 (39,40). Por el contrario, el PTEN, que actúa como una lípido-fosfatasa, inactiva los trifosfoinositólidos reprimiendo esta ruta (41,42). Conjuntamente, los mecanismos anteriormente revisados indican, como se resume en la figura 1, que la apoptosis es el fenómeno resultante de la integración de varias señales pro y antiapoptóticas que aumentan o disminuyen la expresión de genes específicos.

RELACIÓN ENTRE *H. PYLORI*, APOPTOSIS Y PROLIFERACIÓN CELULAR

H. pylori es la principal causa de gastritis crónica y de úlcera péptica, y ha sido clasificado como un carcinógeno de tipo I basándose en evidencias seroepidemiológicas (43-46). *H. pylori* coloniza la mucosa gástrica adhiriéndose al tejido epitelial, pero sin penetrar en las células epiteliales (47-49). Se ha observado que *H. pylori* induce la apoptosis en pacientes con úlcera gastroduodenal y gastritis (50-55). Algunos autores han encontrado más de cinco veces incrementado el número de células apoptóticas en pacientes con úlcera duodenal comparado con el que constataron tras erradicar *H. pylori* (56). En estudios *in vitro* se ha observado que en líneas celulares tumorales incubadas con *H. pylori* se induce la apoptosis (57) y la parada del ciclo celular entre las fases G1-S (58).

Tanto la apoptosis como la proliferación celular están aumentadas en las lesiones precancerosas (atrofia, metaplasia y displasia) en presencia de la infección por *H. pylori* (59). La desregulación de los genes que controlan la apoptosis y por tanto la homeostasis que se mantiene entre la apoptosis y la proliferación celular, puede conducir en última instancia al desarrollo de tumores (60).

El proceso degenerativo de la mucosa gástrica comienza con la inflamación, conduciendo a la destrucción de las glándulas gástricas (atrofia), su reemplazamiento con un epitelio de tipo intestinal (metaplasia intestinal), y su progresión a displasia (la manifestación más temprana de neoplasia visible al microscopio) (61).

Si la mucosa infectada por *H. pylori* está invadida por infiltrado celular inflamatorio, las glándulas se separan y comprimen, y pueden aparentar una falsa atrofia (61). Por supuesto, cuando las glándulas se destruyen y son sustituidas por otro tejido (epitelio metaplásico o fibroblastos y matriz extracelular) realmente desaparecen (verdadera atrofia) y en ambos casos presentan consecuencias patofisiológicas similares, como la reducción en la producción de ácido, resultando en una hipoclorhidria. Tan sólo la atrofia caracterizada por una metaplasia intestinal y por fibrosis, y por tanto una pérdida verdadera de glándulas, se ha asociado con el desarrollo de cáncer gástrico, pudiendo en el caso de la atrofia aparente llegarse a una regeneración glandular y a la recuperación funcional de la producción de ácido (61).

Otros autores han observado que en lesiones premalignas o carcinoma gástrico, el incremento de la proliferación celular deja de estar asociado con *H. pylori* en cierto momento, puesto que su erradicación no la revierte (51, 62), sugiriendo que puede estar asociada a una desregulación del crecimiento celular debida a cambios genéticos ocurridos durante la metaplasia intestinal, tales como la activación de protooncogenes como *k-ras*, la expresión y liberación de gastrina y otros factores de crecimiento celular, y la mutación de genes supresores como p53 (63, 64). Estos péptidos mitógenos, tales como el *epithelial growth factor* (EGF), el *hepatocyte growth factor* (HGF, responsable de tumores epiteliales y no epiteliales), y el *transforming growth factor- α* (TGF- α) se sintetizan en la mucosa gástrica, especialmente tras el daño producido por *H. pylori*, interactuando con sus receptores de superficie en las células epiteliales e induciendo la expresión de los oncogenes *c-myc*, *c-jun* y *c-fos*, que estimulan el crecimiento celular (65). La mutación de *k-ras* causa una sobreexpresión de la proteína p53 mutada, seguida de la fosforilación y activación de las MAP-kinasas, provocando el crecimiento tumoral.

La gastrina, sintetizada principalmente por las células G de la mucosa gástrica, es otro factor implicado en la carcinogénesis relacionada con *H. pylori*. Esta hormona al ser segregada a la luz gástrica en respuesta a la bacteria, puede estimular el crecimiento de *H. pylori* y a las células G para que secreten más gastrina, bloqueando la expresión del gen *p21* (66) –este último regulado por p53 e implicado en la parada del ciclo celular y en la apoptosis– y sobreexpresando la proteína p53 mutada (62). La erradicación de *H. pylori* en pacientes con cáncer gástrico previa a la cirugía, es seguida de una marcada caída en los niveles de gastrina plasmática, de la gastrina luminal y de la gastrina en el tejido canceroso (67).

El sistema Fas/Fas-Ligando está implicado en la apoptosis inducida por *H. pylori* en células epiteliales y células de la lámina propia (57,68-70). En un estudio se ha observado que la expresión de mRNA de FasL fue más alta en linfocitos T de pacientes infectados comparada con sujetos sanos, indicando que las células T locales pueden inducir apoptosis a través de Fas/FasL (71). Además, la expresión de mRNA de FasL está también aumentada en células epiteliales gástricas durante la infección por *H. pylori*, sugiriendo que puede haber también apoptosis inducida por las propias células epiteliales, provocando su propia muerte y la de las células epiteliales vecinas, y no sólo mediada por el FasL de los linfocitos T (69). También se ha observado la interacción entre *H. pylori* y el complejo principal de histocompatibilidad MHC II como receptor en la inducción de la apoptosis en células gástricas epiteliales (72).

Daño oxidativo producido por *H. pylori* y apoptosis

Los radicales de oxígeno (ión superóxido y peróxido de hidrógeno) derivados de los neutrófilos activados por la infección de *H. pylori*, son factores dañinos para la mucosa gástrica (73-78). Se ha descrito una asociación positiva entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y la infección y el daño histológico por *H. pylori* (79). La protección de las células contra las ROS está inducida por la activación de enzimas secuestradoras de estas especies, tales como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutatión peroxidasa.

Algunos autores, utilizando la línea celular epitelial AGS, encontraron que si se exponían a ROS en ausencia de *H. pylori*, reducía la supervivencia celular al 84%. Por otra parte, si dichas células se exponían a ROS tras incubarlas con *H. pylori*, reducía la supervivencia al 73 y 39% si la cepa era *cagA*⁺ o *cagA*⁻ respectivamente. También midieron la actividad de la SOD, comprobando que era superior en las células incubadas con cepas *cagA*⁺ comparada con las *cagA*⁻, pero tan sólo estaba aumentada la expresión de la Mn-SOD inducida por citocinas, con un incremento modesto de la CuZn-SOD constitutiva. Igualmente se han descrito unos niveles de actividad más altos de catalasa y glutatión peroxidasa en las cepas *cagA*⁺. Este aumento de actividad de las enzimas que suprimen a los agentes que potencialmente pueden causar daños en el DNA tras la exposición a cepas *cagA*⁺, es probablemente una de las causas del incremento en la supervivencia de las células tras la exposición a ROS (80).

Usando 8-hidroxiguanidina como marcador del daño oxidativo en el DNA de células de la mucosa gástrica, en los pacientes *H. pylori* positivos había mayor presencia de guanina hidroxilada en el DNA que en pacientes sin infección por *H. pylori* (81). Esto indica que el daño producido en el DNA por la infección por *H. pylori* en las fases tempranas de la gastritis podría provocar su transformación en cáncer gástrico (80).

Por otra parte, la cloramina (NH₃Cl) es un agente tóxico oxidante producido en la mucosa gástrica por la invasión por *H. pylori*. En los neutrófilos, la enzima mieloperoxidasa cataliza la oxidación del cloruro por H₂O₂ a HClO. Este reacciona con el NH₄⁺ proveniente del metabolismo de *H. pylori* produciendo NH₃Cl (82), el cual es muy tóxico debido a su lipofilicidad y bajo peso molecular, pudiendo atravesar con facilidad la membrana plasmática celular. En estudios *in vitro* se ha constatado que la tasa de apoptosis y el nivel de condensación de la cromatina se incrementaron significativamente más tras el tratamiento de las células gástricas con NH₃Cl que con NH₄⁺ o HClO (83).

Se ha evidenciado la activación del poro MPT y de la caspasa-3 en células expuestas a NH₃Cl, liberando el citocromo-c (84), el cual forma un complejo con Apaf-1 y con la procaspasa-9 activándola e iniciando la cascada de activación de caspasas, tales como las caspasas 3, 6 y 7 iniciándose el proceso de apoptosis. Aparte de la NH₃Cl, otras moléculas producidas por *H. pylori* como la citotoxina VacA (85) o el lipopolisacárido, pueden inducir la apoptosis (86).

Citocinas liberadas en respuesta a la infección por *H. pylori* y la respuesta inflamatoria asociada

La respuesta inflamatoria/inmune del huésped estimulada por *H. pylori* conduce a la liberación de citocinas producidas por las células Th1, tales como TNF- α , interferón- γ (INF- γ) o IL-2, que potencian la apoptosis (57,69,72). Esta respuesta está mediada por el sistema Fas (87) y conduce a la activación de las caspasas 3 y 8 tras la fragmentación del DNA, y aumenta la expresión de MHC II y su unión a *H. pylori* (88). Por el contrario, las citocinas producidas por los Th2, como IL-10, previenen la apoptosis (89).

Regulación del gen IL-8

La IL-8 es una citocina quimiotáctica activadora de linfocitos y neutrófilos, secretada por las células gastrointestinales epiteliales en respuesta a infecciones bacterianas (90), estableciendo un gradiente quimiotáctico hacia la superficie epitelial.

El gen IL-8 humano contiene varios sitios de unión dentro de su promotor, uno para el NF- κ B y junto a este locus hay otros dos para la unión de las proteínas c-Fos y c-Jun, que al unirse forman el factor de transcripción AP-1. NF- κ B es un factor de transcripción citoplásmico, cuya activación y regulación están estrechamente reguladas por una familia de proteínas llamadas I κ B, unidas no covalentemente a NF- κ B, las cuales previenen su traslocación al núcleo. A través de moléculas señalizadoras como TNF- α , se llega a la fosforilación de I κ B α y de I κ B β , y a la degradación proteosómica de I κ B α , li-

berándose el NF- κ B, el cual migra hasta el núcleo donde regula la expresión de varios genes, incluyendo los implicados en la inflamación y en la supervivencia celular (91). Existen dos quinasas inducibles, I κ B kinasa- α e I κ B kinasa- β (IKK- α e IKK- β), que fosforilan a I κ B en respuesta a citocinas proinflamatorias (92) y estas a su vez son fosforiladas y activadas por la quinasa inductora de NF- κ B (NIK), activada a su vez a través de proteínas asociadas a los receptores de TNF- α e IL-1 (93), TRAF2 y TRAF6 respectivamente. Puesto que la estimulación de NF- κ B no requiere síntesis proteica, permite una acción efectiva sobre sus genes diana, como IL-8 (91).

La activación de NF- κ B es seguida de un incremento en la expresión del mRNA y de la proteína IL-8 (94,95). La habilidad de *H. pylori* para activar NF- κ B *in vitro* ha sido corroborada *in vivo*, ya que NF- κ B activado está presente en células epiteliales de pacientes infectados (95). Las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) son mediadoras en la activación de NF- κ B dependiente de *H. pylori* y en la expresión de IL-8. La transducción de señales ocurre a través de una cascada de fosforilaciones de las quinasas MAPK: quinasas reguladas por señales extracelulares 1 y 2 (ERK1/2), p38 y la quinasa aminoterminal c-Jun (JNK). Ya que las MAPK activan tanto a NF- κ B como a AP-1, y el gen IL-8 tiene dominios de unión para ambos, se ha investigado y demostrado que la activación de NF- κ B no es suficiente para la expresión de IL-8, siendo necesaria la intervención de AP-1 (96).

La activación de ERK por una MAPK quinasa (MEKK1) lleva a la fosforilación de Elk-1 y esta junto con JNK, permite la transcripción de c-fos y c-jun, cuyos productos forman el AP-1. Parece que MEKK1 y NIK pueden cada una activar las I κ B, fosforilándolas y liberando el NF- κ B (92,93).

Relación entre el genotipo de *H. pylori* y su patogenicidad

Se ha observado que las cepas *cagA*⁺ de *H. pylori* inducen elevados niveles de inflamación, y una gastritis más intensa que las *cagA*⁻, además de un riesgo mayor de padecer cáncer gástrico o úlcera péptica, además de provocar una mayor proliferación celular comparadas con las *cagA*⁻ (56, 91,97). Se ha comprobado que las cepas *cagA*⁺ aumentan notablemente la expresión de IL-8, induciendo por tanto una respuesta inflamatoria más acentuada, mayor que la provocada por las *cagA*⁻ (91). Se ha observado que al exponer cultivos de células a cepas *cagA*⁺ causan un aumento inicial en la expresión de las proteínas p53 y p21, seguido de un descenso, mientras que las *cagA*⁻ estimulan un aumento continuado (98). Además, la expresión de Bcl-2 está aumentada en células expuestas a cepas *cagA*⁺ y disminuida en cepas *cagA*⁻ (98). Por tanto, en cepas *cagA*⁺ parece aumentar inicialmente la apoptosis, disminuyendo posteriormente, y se mantiene un in-

cremento persistente de la proliferación celular. En este sentido, se ha sugerido que las cepas *cagA*⁻ producen principalmente apoptosis, mientras que la proliferación se correlacionaría con cepas *cagA*⁺ (56).

Sin embargo, otros autores discrepan de estas observaciones y han comprobado que ambas cepas provocan apoptosis sin diferencias significativas entre ellas (58,99,100). Algunos autores han investigado en cultivos celulares la apoptosis inducida por *H. pylori cagA*⁺, y han encontrado un incremento en la expresión de Bax, una proteína proapoptótica de la familia de Bcl-2, y una supresión de la expresión de Bcl-2 antiapoptótica (101).

Por otra parte, se ha observado que *H. pylori* posee el sistema de secreción tipo IV, el cual es capaz de trasladar un factor bacteriano dentro de las células epiteliales que activa a NF- κ B y/o a las MAP-quinasas, con la consiguiente inducción de IL-8 (91). Está demostrado que existe una fosforilación de la proteína CagA en la célula epitelial tras el contacto con *H. pylori* (79,102,103). Datos recientes indican que la CagA-fosforilada induce cambios en el citoesqueleto tales como la polimerización de filamentos de actina (91,104).

Sin embargo la disrupción de *cagA* no afecta a la activación de NF- κ B, de las MAP-quinasas o de IL-8 (94,105,106), indicando que debe haber algún otro factor inyectado en la célula huésped.

Cambios en la expresión de enzimas relacionadas con la inflamación causada por la infección por *H. pylori*

Las enzimas ciclooxigenasas (COX) catalizan la conversión de ácido araquidónico a prostanoïdes como la prostaglandina E₂ (PGE₂), los cuales protegen la mucosa gástrica de la apoptosis, aumentando la proliferación celular (107,108). Existen dos isoenzimas: COX-1 y COX-2, la primera es constitutiva y la segunda es inducible en casos de lesión y media, entre otros procesos, en la inflamación (107-110).

Los antiinflamatorios no esteroïdes (AINE) se encuentran entre los fármacos más utilizados. Los AINE clásicos o no específicos inhiben ambas isoformas de COX, por lo que su efecto beneficioso se asocia en mayor o menor grado a la inducción de lesiones en el tracto digestivo (111).

Por otra parte, la relación entre los AINE y la infección por *H. pylori* no está aclarada, habiéndose postulado desde una relación sinérgica, pasando por una independencia absoluta, hasta una relación antagónica sobre la mucosa gastroduodenal (112).

Se ha demostrado que las células del tracto gastrointestinal, tales como macrófagos, neutrófilos, miofibroblastos y células endoteliales expresan COX-2 en situaciones de inflamación (107,113-115). En concreto, se ha observado cómo la gastritis debida a *H. pylori* induce su expresión, dependiendo del tipo de cepa bacteriana (113,115-123), lo que podría explicar en parte el distinto

potencial patogénico (123,124). Se ha comprobado que la infección por cepas *H. pylori cagA*⁺ puede sobreexpresar COX-2 en pacientes con cáncer gástrico (123). Además, algunos estudios han demostrado que la erradicación del microorganismo se asocia con un descenso en la expresión gástrica de COX-2 (116,121,125).

Se ha demostrado que otra molécula, el óxido nítrico (NO), contribuye a la protección de la mucosa gástrica aumentando el flujo sanguíneo e inhibiendo la adhesión de leucocitos al endotelio (126). En la mucosa gástrica normal no existe enzima NO sintetasa inducible (iNOS), pero su expresión aumenta en pacientes con gastritis debida a *H. pylori* (116).

Tanto la iNOS como la COX-2 son inducidas por citoquinas, tales como la IL-1 β , TNF- α o el INF- γ , ésteres de forbol y factores de crecimiento en general, además de los lipopolisacáridos bacterianos (127-129). Se ha comprobado que la inducción de IL-1 β por productos bacterianos estimula la síntesis de PG en el diversos tejidos (130), aunque también se ha observado su incremento en sujetos sin signos clínicos de infección (131). Se ha demostrado que células tratadas con IL-1 β muestran una degradación y una subsiguiente reaparición del inhibidor de NF- κ B, la proteína I κ B α , sugiriendo que el tratamiento con IL-1 β activa a NF- κ B (132).

Por otra parte, se ha investigado en experimentos *in vitro* el efecto de la mutación en p53 sobre la expresión de COX-2 y sobre la producción de PGE₂, encontrándose que las células con p53 salvaje (*wild type*) producen un 90% menos de PGE₂ que las células con p53 mutada, además de suprimir completamente la expresión de COX-2 (133). La proteína p53 salvaje también bloquea la inducción por ésteres de forbol de la actividad del promotor de COX-2 (133).

Es destacable que el NO es mutagénico (134,135), y sus metabolitos, como las nitrosaminas, están implicadas en la carcinogénesis gástrica (136). También los productos de la COX-2 han mostrado ser mutagénicos (137) y cancerígenos (138,139). Se han identificado varios sitios de unión para factores de transcripción dentro del promotor del gen COX-2, incluyendo dos para NF- κ B, los cuales regulan la transcripción de COX-2 (132).

Se ha comprobado que el nivel de expresión de ambos genes es más alto en tejidos de pacientes con gastritis e infección concomitante por *H. pylori* que en tejidos de pacientes con gastritis pero sin la infección por *H. pylori*, mientras que el nivel de la isoforma constitutiva de la ciclooxigenasa COX-1 era aproximadamente igual en todos los tejidos (116). En concordancia con el hecho de que la colonización por *H. pylori* es mayor en el antro que en el cuerpo gástrico (140,141), se ha comprobado

que el nivel de expresión tanto de la iNOS como de la COX-2 es también considerablemente más elevado en el antro. Sin embargo, es interesante destacar que en un estudio reciente, el nivel de inflamación no fue significativamente más alto en el antro que en el cuerpo, sugiriendo un efecto directo de *H. pylori* en la inducción de la expresión de ambos genes (116).

CONCLUSIONES

En resumen se pueden extraer una serie de conclusiones que se exponen a continuación:

—La apoptosis es un proceso de muerte celular programada, genéticamente controlado, que puede verse alterado por numerosos factores, entre los cuales se encuentran el estrés oxidativo, la radiación ionizante, la hipoxia, etc., que pueden conducir en último término a mutaciones en oncogenes reguladores del proceso de apoptosis/proliferación celular, las cuales pueden desequilibrar la homeostasis gástrica y conducir al desarrollo de procesos tumorales.

—Otro de los factores que pueden alterar el equilibrio entre la apoptosis y la proliferación, concretamente en la mucosa gástrica, es la infección por *H. pylori*. El resultado puede ser una tasa de apoptosis desmesuradamente elevada, lo cual puede conducir a procesos de gastritis o úlceras, o bien producir un aumento en la proliferación celular junto con una disminución de la apoptosis, lo cual puede conducir potencialmente hasta un proceso de metaplasia, displasia y finalmente a un adenocarcinoma.

—Por último, no está completamente aclarada la relación entre el genotipo de las cepas de *H. pylori* y su potencial patogénico, si bien algunos trabajos evidencian, por una parte, una asociación entre las cepas *cagA*⁺, una disminución de la apoptosis y el desarrollo de procesos neoplásicos y, por otra parte, una asociación entre las cepas *cagA*⁻ y una tasa apoptótica más elevada comparada con tejidos sanos. Por el contrario, otros autores llegan a conclusiones opuestas, al no demostrar diferencias en la tasa de apoptosis entre las cepas de *H. pylori cagA*⁺ y *cagA*⁻, o evidenciar que son precisamente las *cagA*⁺ las que provocan una tasa apoptótica más elevada, por lo que esta relación continúa representando un tema muy controvertido.

AGRADECIMIENTOS

Esta revisión ha sido realizada en parte gracias a una beca concedida por el Instituto de Salud Carlos III (03/02).