Πειραματικά μοντέλα

Διονύσης Σγούρας

Το Ελικοβακτήριο του πυλωρού (*Επ)*, 21 χρόνια μετά την ανακάλυψη του από τους Marshall και Warren,[1] παραμένει σταθερά στο προσκήνιο της ιατρικής και ερευνητικής κοινότητας διεθνώς, λόγω του τεράστιου ενδιαφέροντος που παρουσιάζει η βιολογία του. Η ικανότητα του *Επ* να παρακάμπτει τους μηχανισμούς επαγρύπνησης του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος επιφέροντας χρόνια λοίμωξη και η αιτιολογική συσχέτιση αυτής λοίμωξης με την επαγωγή μηχανισμών καρκινογένεσης στο γαστρικό επιθήλιο αποτελούν πεδία έντονης ερευνητικής δραστηριότητας διεθνώς. Οι πειραματικές προσεγγίσεις για τη μελέτη των ανωτέρω μηχανισμών στην *Επ* λοίμωξη συνδυάζουν τη χρήση *in vitro* κυτταρικών σειρών, *in vivo* ζωικών μοντέλων και πρόσφατα *in silico* μικροσυστοιχιών DNA (DNA microchips). Η παρούσα αναφορά εστιάζεται στα συστήματα πειραματικής *Επ* λοίμωξης και στις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση των αποτελεσμάτων μέσα από συγκεκριμένα παραδείγματα της σύγχρονης έρευνας για το Ελικοβακτήριο.

In vitro πειραματικά συστήματα *Επ* λοίμωξης

Τα *in vitro* πειραματικά συστήματα *Επ* λοίμωξης συνδυάζουν την επιμόλυνση κυτταρικών καλλιεργειών γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων ή κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος με στελέχη *Επ* και παρέχουν τη δυνα-

Ερευνητής Γ', Εργαστήριο Ιατρικής Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

τότητα μελέτης των συγκεκριμένων μοριακών μηχανισμών αλληλεπίδρασης μεταξύ βακτηρίου και ξενιστή. Οι καλλιέργειες γαστρικών κυττάρων είναι είτε *πρωτογενείς*, προερχόμενες από βιοπτικό υλικό ασθενών ή πειραματοζώων με πεπερασμένη δυνατότητα πολλαπλασιασμού είτε *συνεχείς κυτταρικές σειρές*, προερχόμενες κατά κανόνα από γαστρικό αδενοκαρκίνωμα, οι οποίες έχουν αποκτήσει την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται απεριόριστα, εφόσον υπάρχουν τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά στο καλλιεργητικό υλικό. Πρωτογενή γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα από βιοπτικό υλικό απομονώνονται με επίδραση κολαγενάσης σε συνδυασμό με διαφορική φυγοκέντρηση και αποτελούν μικτό κυτταρικό πληθυσμό με 60-85% βλεννο-παραγωγικά κύτταρα, 10-35% κύτταρα G και 3% κύτταρα που παράγουν σωματοστατίνη.[2] Οι συνεχείς γαστρικές κυτταρικές σειρές αντίθετα, αποτελούνται κατά κανόνα από αμιγή πληθυσμό διαφοροποιημένων κυττάρων, εμφανίζουν διακριτές χρωμοσωμικές ανωμαλίες και επάγουν καρκινογένεση σε ζωικά μοντέλα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων κυτταρικών σειρών συνοψίζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Συνεχείς κυτταρικές σειρές γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων.

Σειρά	**Προέλευση**	**Μορφολογία**	**Καρκινογένεση**
AGS	ΓΑ*	επιθηλιακά	Ναι σε nu/nu** ποντίκια
KATO III	ΓΑ, πλευριτικό υγρό	σφαιρικά	Όχι σε nu/nu ποντίκια
NCI-N87	ΓΑ, ήπαρ	επιθηλιακά	Ναι σε nu/nu ποντίκια
SNU-1, -5, -16	ΓΑ, ασκίτης	πολυκυττάριοι σχηματισμοί	Ναι σε ημιστερεά υλικά
MKN45	ΓΑ	σφαιρικά	
Hs 746T	ΓΑ, κάτω άκρο	επιθηλιακά	Ναι σε nu/nu ποντίκια

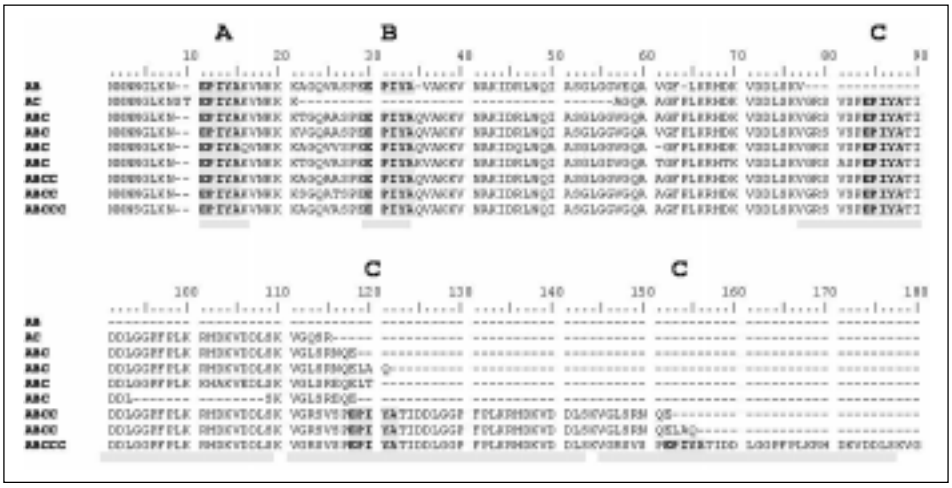
**ΓΑ: Γαστρικό αδενοκαρκίνωμα*

***nu/nu: Γενετικά τροποποιημένα ποντίκια με ανοσοκαταστολή*

Τα *in vitro* κυτταρικά συστήματα πειραματικής λοίμωξης *Επ* έχουν συμβάλλει στη διαλεύκανση του μηχανισμού δράσης παραγόντων παθογένειας του *Επ* (όπως οι πρωτεΐνες CagA, VacA κ.ά.), εξηγώντας εν μέρει την αρχική επιδημιολογική παρατήρηση της παρουσίας αυτών των παραγόντων σε στελέχη που συνδέονται με αυξημένες αλλοιώσεις στο γαστρικό βλεννογόνο. Η μελέτη της αλλαγής αφ' ενός της μορφολογίας και αφ' ετέρου της κινητικότητας που παρατηρείται σε γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα μετά από *in vitro Επ* μόλυνση, γνωστή και σαν επαγωγή του *ραμφοειδούς φαινοτύπου* (humming-bird phenotype) είναι ένα τέτοιο χαρακτηριστικό παράδειγμα που αναδεικνύει

τη βιολογική σημασία της πρωτεΐνης CagA.[3] Η εμφάνιση των συγκεκριμένων μορφοκινητικών αλλαγών τύπου-αυξητικού παράγοντα, σχετίσθηκε με την ενδοκυττάρια ανίχνευση φωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης CagA. Η CagA αφού εισέλθει μέσα στα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα φωσφορυλιώνεται από κινάσες της οικογένειας Src, σε τυροσίνες (Y) που περιλαμβάνονται σε επαναλαμβανόμενα πεπτιδικά μοτίβα της μορφής EPIYA (γλουταμικό-προλίνη-ισολευκίνη-τυροσίνη-αλανίνη). Από μελέτες σε στελέχη *Επ* που προέρχονται από Δυτικούς και Ασιατικούς πληθυσμούς διαπιστώθηκε ότι παρατηρούνται από 2-5 μοτίβα τύπου EPIYA στο καρβόξυ-τελικό άκρο της CagA πρωτεΐνης εκ των οποίων τα δύο πρώτα (EPIYA-A, EPIYA-B), είναι φυλογενετικά διατηρημένα (Εικόνα 1).

Αντίθετα, ο αριθμός των EPIYA-C μοτίβων ποικίλει και είναι αποτέλεσμα επανάληψης μίας αλληλουχίας 34 αμινοξέων (Εικόνα 1). Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι στελέχη *Επ* που προέρχονται από ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα παρουσιάζουν μεγαλύτερη συχνότητα επαναλήψεων της μορφής EPIYA-C και υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης της CagA πρωτεΐνης.[4] Επίσης, ευρήματα του εργαστηρίου μας σε σύνολο 120 και πλέον κλινικών στελεχών *Επ* από παιδιά και ενήλικες, έδειξαν ότι στα παιδιά παρατηρείται αυξημένη παρουσία EPIYA-αρνητικών CagA-θετικών στελεχών, ενώ στους ενήλικες διαπιστώνεται υψηλή συχνότητα εμφάνισης περισσότερων επαναλήψεων της μορφής EPIYA-C,



Εικόνα 1. Ευθυγραμμισμένες πεπτιδικές αλληλουχίες CagA πρωτεΐνης κλινικών στελεχών *Επ* με τα χαρακτηριστικά επαναλαμβανόμενα μοτίβα φωσφορυλίωσης της τυροσίνης EPIYA-A, EPIYA-B και EPIYA-C.

γεγονός που ενδεχομένως να συνδέεται με τη διαφορετική κλινική εκδήλωση της *Επ* λοίμωξης, στις δύο αυτές ηλικιακές ομάδες. Διαπιστώθηκε επίσης ότι η ύπαρξη μοτίβων φωσφορυλίωσης EPIYA στην CagA, και όχι το μικροβιακό φορτίο του *Επ* στο γαστρικό βλεννογόνο, σχετίζεται με το βαθμό βαρύτητας και ενεργού δραστηριότητας της αναπτυχθείσας χρόνιας γαστρίτιδας στο άντρο ασθενών με *Επ* λοίμωξη. Η συσχέτιση αυτή είναι σημαντική στα περιστατικά δωδεκαδακτυλικού, όχι όμως και γαστρικού έλκους στο δείγμα των ασθενών που εξετάσαμε. Ανεξαρτήτως των παραπάνω παρατηρήσεων μεταβολή της κυτταρικής μορφολογίας έχει διαπιστωθεί να επάγεται και από μη-φωσφορυλιωμένες μορφές της CagA μέσω αλληλεπίδρασής της με δύο βασικές πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, την ZO-1 (epithelial tight-junction scaffolding protein) και την JAM (junctional adhesion molecule).[5] Η μεταβολή αυτή οφείλεται αφενός στον έκτοπο σχηματισμό του συμπλόκου στενοσυνδέσμων στο σημείο της βακτηριακής πρόσδεσης και αφετέρου στην αλλαγή στη σύνθεση και λειτουργία του συμπλόκου των κορυφαίων συνδέσμων στα κύτταρα.

Τα *in vitro* συστήματα επιμόλυνσης με *Επ* έχουν οδηγήσει σε σημαντικές παρατηρήσεις για τη δράση ενός άλλου βακτηριακού παράγοντα του *Επ*, της πρωτεΐνης VacA της οποίας η δράση φαίνεται να συνδυάζεται με αυτή της CagA. Σε συνδυασμό με το *ραμφοειδή φαινότυπο* τα κύτταρα που μολύνονται με στελέχη *Επ* που περιέχουν πρωτεΐνη VacA με ισότυπο s1m1 παρουσιάζουν έντονα φαινόμενα δημιουργίας κενοτοπίων. Η ενδοκυττάρια δράση της VacA είναι πολυποίκιλη[6] καθώς σε πειραματικά συστήματα καλλιεργειών γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων με *Επ in vitro*, παρατηρήθηκε επαγωγή φαινομένων απόπτωσης μετά από ενεργοποίηση προ-κασπασών 9 και 3, 6, 7 και εντοπισμένη δράση της VacA στα μιτοχόνδρια των γαστρικών κυττάρων με απελευθέρωση κυτοχρώματος C. Επίσης διαπιστώθηκε ότι η VacA πρωτεΐνη μπορεί να παρεμποδίζει την ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων, μέσω της αναστολής της δράσης του NFAT, ο οποίος εκπροσωπεί μία οικογένεια συγγενών παραγόντων μεταγραφής που ελέγχουν τη συνδυασμένη έκφραση γονιδίων κυτοκινών, όπως η Ιντερλευκίνη-2 (IL-2).[7]

Κυτταρικές σειρές χρησιμοποιούνται κατά κόρον και σε *in vitro* μελέτες του μηχανισμού πρόσδεσης του *Επ* στα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα. Τέτοιες μελέτες έχουν δείξει ότι μετά από την προσκόλληση του *Επ*, τα επιθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν σημαντικά επίπεδα προ-φλεγμονωδών χημειοκινών, όπως η Ιντερλευκίνη-8 (IL-8) οι οποίες παίζουν κεντρικό ρόλο στην επαγωγή της γαστρικής φλεγμονής καθοδηγώντας τη διήθηση ουδετεροφίλων και λεμφοκυττάρων στο χόριο. Παρ' όλα τα τεχνικά και οικονομικά πλεονεκτήματα της χρήσης συνεχών κυτταρικών σειρών πρέπει να ασκείται ιδιαίτερη προσο-

χή στην ερμηνεία αποτελεσμάτων διότι έχουν παρατηρηθεί σημαντικές ποιοτικές διαφορές στη γονιδιακή έκφραση έναντι των πρωτογενών καλλιεργειών. Χαρακτηριστική περίπτωση αποτελεί αυτή του *υποδοχέα TLR4* (Toll-like Receptor 4), τον οποίο αρχικές μελέτες σε συνεχείς κυτταρικές σειρές AGS είχαν υποδείξει σαν το υπεύθυνο μόριο αναγνώρισης του *Επ* από το γαστρικό επιθήλιο λόγω της αυξημένης του έκφρασης μετά από *Επ* μόλυνση στα εν λόγω κύτταρα. Παρά ταύτα, μετέπειτα μελέτες σε πρωτογενή κύτταρα από βιοπτικό υλικό έδειξαν ότι αντίθετα με τα προηγούμενα αποτελέσματα ο *υποδοχέας TLR4* δεν εκφράζεται στο γαστρικό επιθήλιο ανεξαρτήτως της παρουσίας ή μη Ελικοβακτηρίου.[8]

***In vivo* πειραματικά συστήματα *Επ* λοίμωξης**

Στις μελέτες ανοσολογικής φύσεως σχετικά με το *Επ*, που περιλαμβάνουν και την έρευνα για την παραγωγή εμβολίων έχουν αναπτυχθεί ζωικά μοντέλα *Επ* λοίμωξης σε τρωκτικά (ποντίκια, αρουραίοι, γερβίλοι Μογγολίας), γάτες και πιθήκους. Πιο αναλυτικά, συγκεκριμένα στελέχη *Επ* χορηγούνται ενδογαστρικά σε πειραματόζωα και παρακολουθείται η πρόοδος του αποικισμού και της συνοδού γαστρίτιδας. Ένα τέτοιο στέλεχος *Επ* είναι το ανθρώπινο στέλεχος Sydney Strain 1 (SS1) που απομονώθηκε το 1995 από το άντρο Ελληνίδας ασθενούς με γαστρικό αδενοκαρκίνωμα στο Sydney της Αυστραλίας.[9] Μετά από επανειλημμένη ενδογαστρική χορήγηση σε ποντίκια κατέστη δυνατή η επιτυχής εγκατάσταση της λοίμωξης στα εν λόγω ζώα με υψηλά επίπεδα επιτυχίας. Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι το συγκεκριμένο στέλεχος επάγει τη δημιουργία χρόνιας ενεργού γαστρίτιδας με χαρακτηριστικά που μοιάζουν με αυτά της ανθρώπινης *Επ* λοίμωξης, πλην όμως με διαφορετική βαρύτητα η οποία εξαρτάται από το γενετικό υπόβαθρο των ποντικών. Το εν λόγω στέλεχος έχει χρησιμοποιηθεί σε μία σειρά μελετών για την επίπτωση διαφόρων παραγόντων στη *Επ* λοίμωξη και από το εργαστήριο μας. Συγκεκριμένα, διαπιστώσαμε ότι η συνεχής κατανάλωση γαλακτοβακίλλων μέσω του χορηγούμενου ποσίμου ύδατος, είχε σαν αποτέλεσμα την ύφεση της χρόνιας ενεργού γαστρίτιδας που αναπτύσσεται σε ποντίκια C57BL/6 μετά από χορήγηση του στελέχους SS1.[10,11] Ένα άλλο ευρέως χρησιμοποιούμενο στέλεχος απομονωμένο από γάτες είναι το *Helicobacter felis* στο οποίο η βαρύτητα του αποικισμού και της συνοδού γαστρίτιδας εξαρτάται από το γενετικό υπόβαθρο των πειραματοζώων, με αποτέλεσμα κάποια ζώα να αναπτύσσουν έντονη γαστρίτιδα (ποντίκια C57BL/6), άλλα μέτρια (ποντίκια C3H/HeN) και άλλα ήπια (BALB/c). Πιο συγκεκριμένα στα ποντίκια C57BL/6 το εν λόγω στέλεχος προκαλεί ανάπτυξη ατροφικής γαστρίτιδας και εντερικής μεταπλασίας, συνδυά-

ζοντας υψηλότερα επίπεδα γαστρικής φλεγμονής και κυτταρικού πολλαπλασιασμού στο σώμα και την καρδία σε σχέση με το στέλεχος SS1. Με χρήση του εν λόγω ζωικού μοντέλου πρόσφατα παρατηρήθηκε ότι γαστρικοί επιθηλιακοί καρκίνοι δεν προκαλούνται από προοδευτική μετάλλαξη των κυττάρων του επιθηλίου, αλλά αντίθετα προέρχονται από πολυδύναμα κύτταρα του μυελού των οστών τα οποία στοχεύουν και εγκαθίστανται στις περιοχές της έντονης γαστρικής φλεγμονής, συνεισφέροντας στην εμφάνιση μεταπλασίας, δυσπλασίας και γαστρικού καρκίνου.[12] Η άποψη ότι οι επιθηλιακοί καρκίνοι μπορεί να δημιουργούνται από κύτταρα του μυελού των οστών αποτελεί μία τεράστια αλλαγή στην κατανόηση των μηχανισμών καρκινογένεσης και θα έχει μελλοντικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη θεραπευτικών σχημάτων. Τέλος, το εν λόγω στέλεχος *H. felis* όταν χορηγηθεί σε ποντίκια BALB/c έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία λεμφοκυτταρικών αθροίσεων και σχηματισμό λεμφοζιδίων με βλαστικά κέντρα και για το λόγο αυτό θεωρείται το ζωικό μοντέλο για τη μελέτη του MALT λεμφώματος.[13]

Ένα επίσης ιδιαίτερα χρήσιμο ζωικό μοντέλο *Επ* λοίμωξης αναπτύχθηκε στους γερβίλους Μογγολίας μετά από χορήγηση του στελέχους *Επ* ATCC-43504. Συγκεκριμένα στους 3 και 6 μήνες παρατηρήθηκαν γαστρικά έλκη, εν τω βάθει γαστρίτιδα και ατροφία με μεταπλασία των καλυκοειδών (goblet) κυττάρων. Μετά παρέλευση ενός χρόνου παρατηρήθηκε άτυπη πάχυνση στα γαστρικά τοιχώματα με τοπική αιμορραγία και διάβρωση.[14] Το εν λόγω ζωικό μοντέλο είναι ιδιαίτερης σημασίας αφού συνέδεσε την παρουσία του *Επ* με την επαγωγή γαστρικού καρκίνου και ανέδειξε την αιτιολογική συσχέτιση της *Επ* λοίμωξης με την επαγωγή μηχανισμών καρκινογένεσης στο γαστρικό επιθήλιο. Στον Πίνακα 2 συνοψίζονται τα ιστοπαθολογικά ευρήματα μετά από χορήγηση του εν λόγω στελέχους στους γερβίλους Μογγολίας.

Πίνακας 2. Καρκινογένεση στους γερβίλους.

Ιστοπαθολογικά ευρήματα	**Χρόνος (σε μήνες)**			
	6	**12**	**18**	**24**
Γαστρίτιδα	5/5	4/4	5/5	10/10
Γαστρικό έλκος	4/5	3/4	5/5	5/10
Ατροφία	4/5	4/4	5/5	10/10
Εντερική μεταπλασία	2/5	3/4	5/5	10/10
Δυσπλασία	0/5	2/4	4/5	10/10
Γαστρικός καρκίνος	0/5	0/4	2/5	5/10
Γαστρικά καρκινοειδή	0/5	0/4	0/5	5/10

Στις παραπάνω μελέτες, εκτός των φυσιολογικών πειραματόζωων, έχουν χρησιμοποιηθεί και διαγονιδιακά ζώα, στα οποία κάποιο από τα φυσιολογικά γονίδια έχει είτε υπέρ-εκφραστεί είτε απενεργοποιηθεί (knock out) και έτσι παρουσιάζουν συγκεκριμένο φαινότυπο. Τα INS-GAS ποντίκια αποτελούν χαρακτηριστικό τέτοιο παράδειγμα διαγονιδιακών πειραματοζώων στα οποία το γονίδιο της γαστρίνης είναι υπερεκφρασμένο, με αποτέλεσμα την έκκριση υψηλότερων επιπέδων του παράγοντα στο γαστρικό βλεννογόνο σε σχέση με τα φυσιολογικά. Στα εν λόγω ζώα τα αρσενικά ποντίκια αναπτύσσουν γαστρικό καρκίνο σε μεγαλύτερη συχνότητα από τα θηλυκά μετά από ενδο-γαστρική χορήγηση του στελέχους SS1.[15] Επιπλέον, πλειάδα διαγονιδιακών knock-out ζώων με απενεργοποιημένα σημαντικά γονίδια που ελέγχουν την ικανότητά τους για έμφυτη ή επίκτητη ανοσολογική απόκριση (π.χ. IL-10, IL-4, IL-12, IFN-γ, TLR2, TLR4, Nod1) έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί για τη διαλεύκανση των μηχανισμών που διέπουν την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή στην *Επ* λοίμωξη. Η συμβολή των παραπάνω διαγονιδιακών ζωικών μοντέλων είχε σαν αποτέλεσμα να αναδειχθούν καινούργια δεδομένα για την έμφυτη και την επίκτητη ανοσολογική απόκριση στην *Επ* λοίμωξη, με ευρύτερη σημασία για τις λοιμώξεις γενικότερα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η ανάδειξη του ρόλου του "νησιδίου παθογένειας cag" στη μεταφορά των παραγόντων παθογένειας μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα, στην επαγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών (Ιντερλευκίνη-8) και στην αλληλεπίδραση με στοιχεία του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος (υποδοχείς Toll-like και πρωτεΐνες Nod1 και Nod2). Ειδικότερα το *Επ* αποτέλεσε βακτήριο-μοντέλο για την κατανόηση της ευρύτερης βιολογικής σημασίας των πρωτεϊνών Nod1 που δρουν σαν ενδοκυττάριοι αισθητήρες στη διαδικασία αναγνώρισης των παθογόνων Gram-αρνητικών βακτηρίων από τα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα.[16]

***In silico* πειραματικά συστήματα *Επ* λοίμωξης**

Τα τελευταία χρόνια με τη ραγδαία ανάπτυξη της τεχνολογίας στο επίπεδο των μικροσυστοιχιών DNA (DNA microchips) κατέστη δυνατή η ανάπτυξη των *in silico* διαδικασιών πέραν των παραδοσιακών *in vitro* και *in vivo* τεχνικών για τη μελέτη των αλληλεπιδρώντων βιολογικών φαινομένων. Η τεχνολογία αυτή επιτρέπει την ακινητοποίηση μεγάλου αριθμού (συνήθως μερικών χιλιάδων) νουκλεοτιδικών αλληλουχιών γονιδίων ανθρώπινης ή ζωικής προέλευσης σε ειδικές μικροπλάκες. Οι πλάκες αυτές μπορούν μετά από υβριδισμό με σεσημασμένο DNA ή RNA, σάρωση από laser και επεξεργασία του σήματος με ειδικά υπολογιστικά προγράμματα να παρέχουν ένα τεράστιο αριθμό πληροφοριών σχετικά με την ύπαρξη ή τη διαφοροποιημένη έκφραση αυτών

των γονιδίων. Τα τελευταία χρόνια επιτεύχθηκε η πλήρης αποκρυπτογράφηση του γονιδιώματος του Ελικοβακτηρίου του πυλωρού στα στελέχη 26695[17] και J99.[18] Έτσι, η κατασκευή DNA μικροσυστοιχιών με ακινητοποιημένα τα γονιδιώματα των συγκεκριμένων στελεχών επέτρεψε τη σύγκριση μεταξύ τους αξιολογώντας την παρουσία ή απουσία μεγάλου αριθμού γονιδίων του Επ,[19] ανέδειξε τη μεγάλη γενετική αστάθεια του συγκεκριμένου μικροοργανισμού μέσα στο γαστρικό περιβάλλον[20] και βοήθησε στην αναγνώριση των παραγόντων που είναι υπεύθυνοι για την επιβίωση του *Επ* στο ιδιαίτερα αφιλόξενο περιβάλλον του στομαχιού.[21] Τέλος, πρόσφατα η χρήση μικροσυστοιχιών DNA ανθρώπινου γονιδιώματος έχουν παράσχει τεράστιο όγκο πληροφοριών για τις μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση απευθείας σε γαστρικές βιοψίες ασθενών με λοίμωξη από Ελικοβακτήριο.[22]

Η συνύπαρξη ανθρώπου και Ελικοβακτηρίου είναι πάρα πολύ στενή από αρχαιοτάτων χρόνων. Νεότερα στοιχεία από την παγκόσμια τυποποίηση στελεχών *Επ* έχουν φέρει επανάσταση στη σύγχρονη ανθρωπολογική έρευνα αναδεικνύοντας καινούργια στοιχεία για τις προϊστορικές μετακινήσεις πληθυσμών[23] αλλά και την εθνολογική ταυτότητα ασιατικών φυλών.[24] Για τις συγκεκριμένες μελέτες χρησιμοποιούνται προηγμένα συστήματα ανάλυσης του βακτηριακού και ανθρώπινου γονιδιώματος με μεθόδους βιοπληροφορικής, όπου βιολογικά, κλινικά, ανθρωπολογικά και κοινωνικά δεδομένα συσχετίζονται με τη χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών. Από τα προαναφερθέντα δεδομένα είναι σαφές ότι η ανάπτυξη και μελέτη των πειραματικών μοντέλων της *Επ* λοίμωξης, οδήγησε στην κατανόηση πολύπλοκων βιολογικών διεργασιών με πολύ μεγαλύτερη σημασία από αυτή καθαυτή την επιτυχή εκρίζωση του βακτηρίου. Οι έρευνες για τα πολυποίκιλα ερωτήματα που σχετίζονται με την παθογένεια του *Επ* συνεχίζονται με αμείωτο ενδιαφέρον.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984;1:1311-1315.
2. Richter-Dahlfors A, Heczko U, Meloche RM, et al. *Helicobacter pylori*–infected human antral primary cell cultures: effect on gastrin cell function. Am J Physiol 1998;275:G393-401.
3. Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. Nat Rev Cancer 2004;4: 688-694.
4. Argent R, Kidd M, Owen R, et al. Determinants and consequences of different levels of CagA phosphorylation for clinical ısolates of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 2004;127:514-523.

5. Amieva MR, Vogelmann R, Covacci A, et al. Disruption of the epithelial apical-junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA. Science 2003;300:1430-1434.
6. Cover TL and Blanke SR. *Helicobacter pylori* VacA, A paradigm for toxin multifunctionality. Nature Reviews Microbiology 2005;3:320-332.
7. Gebert B, Fischer W, Weiss E, et al. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. Science 2003;301:1099-1102.
8. Bäckhed F, Rokbi B, Torstensson E, et al. Gastric mucosal recognition of *Helicobacter pylori* is independent of Toll-like receptor 4. J Infect Dis 2003;187:829-836.
9. Lee A, O'Rourke J, De Ungria MC, et al. A standardized mouse model of *Helicobacter pylori* infection: introducing the Sydney strain. Gastroenterology 1997;112:1386-1397.
10. Sgouras D, Maragkoudakis P, Petraki K, et al. *In vitro* and *in vivo* inhibition of *Helicobacter pylori* by Lactobacillus casei strain Shirota. Appl Environ Microbiol 2004;70:518-526.
11. Sgouras D, Panayotopoulou EG, Martinez-Gonzalez B, et al. Lactobacillus johnsonii La1 attenuates *Helicobacter pylori*-associated gastritis and reduces the levels of proinflammatory chemokines in C57BL/6 mice. Clin Diagn Lab Immunol 2005 (submitted).
12. Houghton JM, Stoicov C, Nomura S, et al. Gastric cancer originating from bone marrow–derived cells. Science 2004;306:1568-1571.
13. Enno A, O'Rourke JL, Howlett CR, et al. MALToma-like lesions in the murine gastric mucosa after long-term infection with *Helicobacter felis*-a mouse model of *Helicobacter pylori*-induced gastric lymphoma. Am J Pathol 1995;147:217-222.
14. Hirayama F, Takagi S, Kusuhara H, et al. Induction of gastric ulcer and intestinal metaplasia in the gastric mucosa of Mongolian gerbils infected with *Helicobacter pylori*. J Gastroenterol 1996;3:755-757.
15. Fox JG, Rogers AB, Ihrig M, et al. *Helicobacter pylori*-associated gastric cancer in INS-GAS mice is gender specific. Cancer Res 2003;63:942-950.
16. Viala J, Chaput C, Boneca IG, et al. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. Nat Immunol 2004;5:1166-1174.
17. Tomb J-F, White O, Kerlavage AR, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature 1997;388:539-547.
18. Alm R A, Ling LS, Moir D TL, et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature 1999;397:176-180.
19. Salama N, Guillemin K, McDaniel TK, et al. A whole-genome microarray reveals genetic diversity among *Helicobacter pylori* strains. Proc Nat Acad Sci 2000;97:14668-14673.
20. Israel DA, Salama N, Krishna U, et al. *Helicobacter pylori* genetic diversity within the gastric niche of a single human host. Proc Nat Acad Sci 2001;98:14625-14630.
21. Diehn M and Relman DA. Comparing functional genomic datasets: lessons from DNA microarray analyses of host–pathogen interactions. Curr Opin Microbiol 2001;4:95-101.

22. Mannick EE, Schurr JR, Zapata A, et al. Gene expression in gastric biopsies from patients infected with *Helicobacter pylori*. Scand J Gastroenterol 2004;39:1192.
23. Falush D, Wirth T, Linz B, et al. Traces of Human Migrations in *Helicobacter pylori* populations. Science 2003;299:1582-1585.
24. Wirth T, Wang X, Linz B, et al. Distinguishing human ethnic groups by means of sequences from *Helicobacter pylori*: Lessons from Ladakh. Proc Nat Acad Sci 2004;101:4746-4751.