

Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen 46
Volume

Número 3
Number

Julio-Septiembre 1999
July-September

Artículo:

Toxinas de *Vibrio cholerae*. Una revisión

Derechos reservados, Copyright © 1999:
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



Medigraphic.com

Toxinas de *Vibrio cholerae*.

Una revisión



Palabras clave: Cólera, fisiopatología del cólera, toxinas, *Vibrio cholerae*.

Key words: Cholerae, cholerae and pathophysiology, toxins, *Vibrio cholerae*.

Recibido: 25/06/99
Aceptado: 05/08/99

Luis Alfonso Robles E,* Rosa María García E,** Jesús Torres López***

* Médico residente del tercer año de Patología Clínica del Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS.

** Departamento de Patología, Clínica Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS.

*** Laboratorio de Inmunología, Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS.

Correspondencia:

Dr. Luis Alfonso Robles Espinosa.

Departamento de Patología Clínica, Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI. IMSS.

Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores.

Delegación Cuauhtémoc C.P. 04620 México, D.F.

Resumen

Objetivo: Analizar los mecanismos de acción de las toxinas de *Vibrio cholerae* e informar de algunos aspectos fisiopatológicos con énfasis en sus toxinas.

Material y métodos: Revisión de la literatura de los años 1992 a 1997.

Summary

Objective: Analyze the mechanisms of action of *Vibrio cholerae* and report some pathophysiological aspects with emphasis in its toxins.

Material and methods: Review of literature years 1992-1997.

255

Introducción

El cólera es una de las enfermedades que se conocen desde hace varios siglos. Generalmente afecta a personas de países subdesarrollados. Desde el siglo XIX a la fecha se han presentado siete pandemias de cólera extendidas en forma de ondas, favorecidas por el incremento de la población humana. El *Vibrio cholerae*, serotipo 01, es producto de la separación de dos biotipos, E y TOR, que se pueden diferenciar con base en el número de fenotipos y de sus características bioquímicas. Sin embargo, posteriormente se descubrió la cepa 0139, que también posee varias propiedades asociadas con 70 pandemias de la cepa variedad TOR.¹

Ciclo de vida del *Vibrio Cholerae*

Es un germen patógeno que se encuentra generalmente en el agua. La propagación es por vía fecal-oral, para poder cumplir con las necesidades de supervivencia del microorganismo. Su ciclo vital se caracteriza por:

1. El ingreso de la bacteria al huésped por ingestión de agua y alimentos contaminados.
2. Incluirse varios factores de colonización, como las adhesinas y la producción de enzimas hidrolíticas.
3. La modificación de la expresión del gen para colonizar el epitelio intestinal y la relación de toxinas.
4. Los cambios de su desarrollo, mediados por efectos de las toxinas y su multiplicación.

5. Dirigirse en el tiempo necesario para lesionar y permitir al huésped seleccionar las variantes de la respuesta inmunológica.²

Colonización

Las enzimas hidrolíticas secretadas por *Vibrio cholerae*, como DNAsas, proteasas, quinasas y neuroaminidasas, favorecen su colonización.

Las DNAsas actúan fundamentalmente sobre el epitelio intestinal, donde se lleva a cabo un alto recambio epitelial y por lo tanto un aumento en la cantidad de DNA que sirve de sustrato para las enzimas bacterianas.

Las proteasas son múltiples, destacándose la proteasa soluble llamada hemaglutinina, que presenta una actividad de mucinasa que posee la habilidad de fragmentar la fibronectina, contribuyendo a la activación proteolítica de la toxina colérica. Esta proteasa facilita la debilitación del moco, el cual se produce en la superficie intestinal y contribuye a despegar los protectores del receptor para las adhesinas.

La potente neuroaminidasa es de las más importantes en la patogenia de la infección.

La toxina colérica tiene como receptor el gangliócido GM1, el cual no es abundante en la membrana epitelial, ya que la acción de esta enzima rompe los polisialogangliósidos en residuos de ácido siálico, que producen un incremento de los receptores de la toxina colérica.^{2,11}

Toxinas

La toxina del cólera es la mejor estudiada por su estructura genética y su función. Está compuesta por medio del modelo AB, la cual se halla codificada por genes en el operón ctx AB, donde la unidad es pentamérica. La toxina madura se halla unida con enlaces de disulfuro. La subunidad B tiene el receptor reconocido por la subunidad A, la cual tiene actividad tóxica y pasa a través de la membrana basal hacia el citoplasma, siendo su blanco la adenilatociclasa. El fragmento A es un ADP ribosilante, mientras el componente Ns, Gs de la adenilatociclasa es la que induce el incremento de AMP

cíclico. Lo anterior se asocia con la secreción de cloro y bicarbonato, además de la inhibición de la absorción intestinal de cloruro de sodio, que conducen a cambios en el movimiento de los líquidos, y dan como resultado una diarrea acuosa.

Los genes de la toxina colérica ctx B se caracterizan por repeticiones de secuencias de DNA designados RS; éstos son cuatro y se encuentran codificados en los grupos conocidos como: zot, ace y U, donde se observa la secuencia de amplificación que determina la virulencia y toxicidad de algunas cepas.

El gen zot (zónula de unión celular) fue identificado como responsable de la producción de diarrea, debido a que aumenta la permeabilidad epitelial, que pasa sobre la unión firme de las células epiteliales intestinales.

En cepas de *Vibrio cholerae* variedad 0139 o Bengala son muy similares: los genes que codifican la virulencia y la producción de toxinas de *V. cholerae* 01, E1, Torr y 0139, junto con otros Vibrios, corresponden a los mismos (zot, ace y cep) con duplicaciones similares. En el caso del serotipo 0139 se codifican dos o más cadenas para formar Rs.

En estudios realizados en pacientes de Indonesia, Perú y Tailandia con un cuadro de diarrea acuosa, las variedades encontradas con mayor frecuencia son *Vibrio cholerae* 01 y 0139, dichos serotipos se observan regulados por una proteína llamada pilina A, lo anterior fue logrado con métodos de biología molecular (hibridación del DNA) de la citotoxina zot, ctx y la secuencia repetitiva Rs.^{3,4}

Las toxinas coléricas codificadas en un operón (ctxA y ctxB) son directamente activadas por TOX R, unidas a la membrana con una proteína del DNA. La TOX R es un regulador de 17 genes importantes para la virulencia, y está incluida en la membrana externa. La toxina reguladora del pili es de menor potencia y actúa como proteína accesoria para los factores de colonización. La expresión de algunos de estos factores requieren del regulador de las toxinas de *Escherichia coli*.

Debido a la delección de los cromosomas dependientes de Tox R se manifiesta de forma redu-

cida la regulación; lo anterior es la forma de expresión cotidiana de Vibrios de otras clases.

Las toxinas son muy lábiles ante cambios de temperatura y osmolaridad. La expresión de las cepas en los medios de cultivo depende de las características genéticas de cada una de ellas; lo anterior es debido a la identificación de algunas proteínas asociadas a la membrana externa que son codificadas por los genes mencionados, y confieren incluso las diferencias morfológicas.^{5,11}

Vacunas

En 1992, durante tres meses, India y Bangladesh fueron azotados por una epidemia de cólera donde hubo un total de 107,235 casos de diarrea por *Vibrio cholerae* y 1,400 muertes. Por tal razón, las autoridades de salud propusieron producir una vacuna con péptidos atenuados por medio de inactivación tóxica de *Vibrio cholerae* 0139, de las cepas virulentas llamadas M010 y A14456. Por medio de delección se produce una mutación de los genes que originan ambas cepas clasificadas en Bengal-3, Bengal 15 y VRI-16. Las vacunas se aplicaron siguiendo un protocolo en individuos voluntarios y se observó una protección de 83%.

El fundamento de lo anterior se consideró debido a que las cepas de *Vibrio cholerae* Torr 01 y 0139 son inmunológicamente diferentes.

La vacuna produce protección contra la infección por un espacio de varios años. Se observa incremento de la IgA formada a partir de la mucosa intestinal pocos meses después de la aplicación de la vacuna.

La vacuna es un sistema proteico de la subunidad B del *Vibrio cholerae* 01, y produce inmunidad de memoria local en el intestino.⁶

Proteínas de secreción

Son las responsables de los mecanismos de infección más comunes. Durante varios años se aislaron algunas toxinas de *Vibrio cholerae* (cepa M14), pero eran producidas en forma defectuosa debido a una delección de su genoma. Fueron identificadas

con la finalidad de observar su relación con la producción de proteínas formadoras de toxinas. Los genes identificados son homólogos (gen eps) en diversas bacterias gramnegativas que se incluyen *Klebsiella oxytoca* y *Pseudomonas aeruginosa*.

En la homología de los genes entre las proteínas de secreción y los tipos de fimbrias montadas en cierto número de organismos se observa *Vibrio cholerae* como el más enterotóxico, así como la homología entre las proteínas de los pilis y la biosíntesis de toxinas reguladas, y se supone que la unión del ATP es un sistema componente del grupo de genes tep y eps.^{2,5}

Componentes de superficie

Debido a la naturaleza de colonización en el establecimiento de la infección por *Vibrio cholerae* los componentes de la envoltura celular son útiles en el desarrollo de vacunas. Además, contienen una variedad específica de proteínas de membrana externa, así como lipopolisacárido asociado con el espesor de la superficie de las estructuras.²

Proteínas de la membrana externa

La membrana externa que cubre a *Vibrio cholerae* es similar a la de las bacterias patógenas entéricas gramnegativas más frecuentes, en lo relacionado con las proteínas presentes; se incluyen a las porinas y la OmpA, que son evidentemente inmunológicas tanto en el hombre como en los animales.

La OmpV es la mayor de las proteínas inmuno-génicas y los anticuerpos formados tienen que ser detectados en pruebas séricas por Western blot.

La estructura genética de OmpV es clonada, la secuencia de nucleótidos determinada y la localización de los epítopes con proteínas definidas OmpV que se expresan pobremente en otras bacterias como *Escherichia coli*, por mecanismos extraños como translocaciones en su genoma.^{2,8}

Flagelos y quimiotaxis

La movilidad y la asociación con el fenómeno de quimiotaxis es una importante propiedad de viru-

lencia del *Vibrio cholerae*. La bacteria posee un solo flagelo polar, el cual se encuentra invaginado en la bicapa de la membrana externa, donde se encuentra el lipopolisacárido y otras proteínas específicas.

Estudios sobre regulación de la virulencia indican que la célula tiene habilidad sensorial con otras moléculas que, son determinantes para expresar estos factores, son muy comunes y se acercan a la relación de respuesta quimiotáctica para algunas de las moléculas y genes reguladores. La presencia de flagelos es esencial para la respuesta quimiotáctica.

Lo anterior es de interés para especular acerca del papel de los genes h y B, los cuales se producen a través de la envoltura de secreción de la hemolisina HiyA de EI y Torr. Es claro que HiyB es homólogo para la familia de transductores quimiotácticos, el cual se encuentra envuelto dentro del motor quimiotáctico en respuesta al medio ambiente. El HiyB es de alta regulación con relación a HiyA, y se asocian a la quimiotaxis estimulada y colaboran con los requerimientos de expresión HiyA. El alto grado de conservación para la motivación con tal transducción de la quimiotaxis de *Escherichia coli*, *Salmonella tiphy* y HiyB se encuentra relacionado con otros transductores en *Vibrio cholerae*, que podrán ser realmente identificados, y facilitan su localización de la estimulación para moderar la quimiotaxis conjuntamente con la patogénesis y la interacción del ambiente.^{2,9}

Mecanismos que evitan al huésped

El lipopolisacárido (LPS) es la molécula más abundante, sobre la superficie celular, de los organismos gram negativos y su función es de protección contra las moléculas hidrofóbicas y detergentes como las sales biliares. El mejor representante de lo anterior es el antígeno O de los LPS, que promueve el serotipo de la bacteria. El LPS de *Vibrio cholerae* O1 es altamente inmunogénico y es un antígeno de protección. Los serotipos dependientes del antígeno son tres: Inaba, Ogawa e Hikojima, y poseen antígenos

comunes, A y C, que expresan el grado de virulencia variable sobre diferentes serotipos y son mucho más reducidos comparados con otros serotipos como el Inaba.^{2,8}

Estudios emitidos por parte de laboratorios especializados demuestran la presencia en *Vibrio cholerae* de la regulación de su virulencia bajo los controles del sistema Tox R, S y T. Tales controles reguladores producen citotoxinas TCP (toxina del pili), ACT, OmpT, OmpV y otras moléculas. Es claro y muy significativo el sistema de regulación genético en *Vibrio cholerae*, que puede expresar efectos negativos y positivos. Los sistemas referidos como cascada, son por los complejos de regulación, que se encuentran expresados por la activación de ToxR, y subsecuentemente activados por ToxT.

La ToxR es una proteína reguladora de membrana la cual es activada como resultado de la estimulación del medio ambiente a través de Tox y aparece para activar a la ToxT, que es miembro de la familia de reguladores transcripcionales. Únicamente ctxA y B aparecen para ser directamente activados por ToxR; sin embargo, otros genes de los ToxR, S y T son regulados por la ToxT. La unión del sitio para ToxR tiene que ser identificada con base en estudios con ctx A y B.

El hierro, conjuntamente relacionado con proteínas, controla la expresión de los genes incluyendo los determinantes de expresión de la virulencia. El crecimiento bajo la influencia del hierro o bien las condiciones que influyen en el incremento de la expresión de algunas proteínas de la membrana externa, las hemolisinas y el sideróforo. La producción de hemolisinas es activada por pequeñas proteínas reguladoras HiyV relacionadas con la familia de la doble hélice de DNA unida a proteínas disponibles asociadas a metales pesados.

Los ToxR y HiyV mutantes son atenuados y muestran un marcado incremento de la LD50 en diversos modelos animales y determinantes que requieren de un completo potencial de virulencia.⁷

Vibrio cholerae O1 representa cambios adversos para los interesados en estudiar los requerimien-

tos moleculares para la patogénesis por la alta diversidad de factores de este proceso. Este contraste dogmático para la enterotoxigenicidad de *Vibrio cholerae*, entre una de las más patogénicas para la producción de diarrea, expresa básicamente adhesinas, que usualmente se refieren como un factor antigénico de colonización y de las toxinas termolábiles y termoestables.^{8,10}

Bibliografía

1. Albert MJ. *Vibrio cholerae* 0139 Bengal. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2345-2349.
2. Manning PA. *Microbiology and immunology*. The University of Adelaide 1996.
3. Bhadra RK, Roychoudhury S et al. Cholera toxin (ctx) genetic element in *Vibrio cholerae* 0139. *Microbiol* 1996; 141: 1977-83.
4. Echeverria P, Hoge ChW et al. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* 0139 isolate from Asia. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52(2): 124-127.
5. Otterman KM, Mekalanos JJ. The ToxR Protein of *Vibrio cholerae* forms homodimers and heterodimers. *J of Bacterial* 1996; 178: 156-162.
6. Coster TS, Killeen KP et al. Safety immunogenicity and efficacy of live attenuated *Vibrio cholerae* 0139 vaccine prototype. *The Lancet* 1995; 345: 949-952.
7. Waldor MK, Mekalanos JJ. Emergence of a new cholera pandemic: Molecular analysis of virulence determinants in *Vibrio cholerae* 0139 and deployment of a live vaccine prototype. *J Infec Dis* 1994; 170: 278-83.
8. Manning PA, Straeher VH. American Society for Microbiology Washington, 1995.
9. Yamamoto TM, Albert J, Sach RB. Adherence to the human small intestines of capsulated *Vibrio cholerae* 0139. *Microbiol* 1997; 119: 229-236.
10. Weintraub AG, Wildman PE et al. *Vibrio cholerae* 0139 bengal possesses a capsular polysaccharides which may confer increased virulence. *Microbiol Patholog* 1994; 16: 235-241.
11. Gardel CL, Mekalanos JJ. Regulation of cholera toxin by temperature, pH and osmolarity. *Methods in enzymology* 1997; 25 517-521.