



Alteraciones de las adhesiones celulares por las toxinas de *Clostridioides difficile* y *Paeniclostridium sordellii*

Alterations in cell adhesions by *Clostridioides difficile* and *Paeniclostridium sordellii* toxins

Carlos Quesada-Gómez^{1*}

Resumen

Introducción: *Clostridioides difficile* y *Paeniclostridium sordellii* son bacterias anaerobias Gram-positivas, formadoras de esporas. *C. difficile* es el principal causante de diarrea asociada a antibióticos. *P. sordellii* se reporta principalmente en infecciones en mujeres embarazadas con un síndrome de choque tóxico y en otras infecciones en animales. Las toxinas con actividad glicosiltransferasa son los principales factores de virulencia de ambas bacterias, *C. difficile* produce las toxinas A y B (TcdA y TcdB) mientras que *P. sordellii* produce la toxina letal (TcsL) y la toxina hemorrágica (TcsH). **Objetivo:** Proporcionar una descripción de los mecanismos de acción sobre las adhesiones celulares de las toxinas bacterianas con actividad glicosiltransferasa y su asociación con cuadros clínicos producidos por *C. difficile* y *P. sordellii*. **Métodos:** Se hizo una revisión con los siguientes parámetros: se utilizaron únicamente artículos experimentales que fueron publicados en el periodo del 2000 al 2021, obtenidos de las bases de datos Google Scholar, Science Direct y Pubmed, en los idiomas español e inglés. Además, siguiendo un patrón de búsqueda donde se incluyeron las palabras clave: *Clostridium difficile*, *Clostridium sordellii*, *Clostridioides*, *Paeniclostridium*, unión celular (adhesión focal, unión estrecha, unión adherente), toxinas. **Resultados:** TcdA, TcdB, TcsL y TcsH pertenecen a la familia de las toxinas grandes glicosilantes, las cuales tienen actividad glicosiltransferasa sobre las GTPasas monoméricas. Las células eucariotas mantienen su estructura y su conformación gracias a las adhesiones celulares, que incluyen las adhesiones focales (célula-matriz extracelular) y las adhesiones fuertes (célula-célula). Parte del mecanismo de acción de esas toxinas clostridiales es que alteran proteínas de adhesiones focales como Src, FAK y paxilina, de uniones estrechas ZO-1, ocludinas y el complejo E-cadherina-cateninas. Lo anterior por mecanismos dependientes de la glicosilación de GTPasas y otros que no lo son. La alteración de estas adhesiones interfiere en la correcta función de la barrera epitelial. Producto de estas alteraciones en las uniones celulares eucariotas en las infecciones por

* Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Correspondencia: carlos.quesada@ucr.ac.cr

Recepción: 07/05/2024. Aceptación: 19/07/2024.

Cómo citar este artículo: Quesada-Gómez C. Alteraciones de las adhesiones celulares por las toxinas de *Clostridioides difficile* y *Paeniclostridium sordellii*. 2024;15(1). DOI: 10.17533/udea.hm.v15n1a03.

C. difficile se presenta disrupción de la barrera epitelial intestinal, aumento en la inflamación y en la permeabilidad lo que exacerba el cuadro clínico, desde diarrea leve hasta diarrea con complicaciones como colitis pseudomembranosa. En el caso de *P. sordellii* afecta principalmente el epitelio pulmonar, al aumentar su permeabilidad vascular, permite el paso de fluidos al parénquima pulmonar, conduciendo a anoxia e inclusive la muerte al alterar las uniones celulares.

Conclusión: La información disponible no es tan amplia por lo que es importante continuar investigando en el tema. Se desconoce aún si hay otras proteínas que se vean alteradas, así como el mecanismo por el cual se alteran. Es importante el estudio de las diferentes TcdB debido a la alta variabilidad de cepas, que repercute en la expresión de estas, en su especificidad de sustrato o de receptor, entre otros aspectos importantes en la patogenia de esta enfermedad. Todo esto con el fin de comprender mejor la patogénesis de los cuadros clínicos por bacterias productoras de toxinas grandes clostridiales con actividad glicosiltransferasa.

Palabras clave: *Clostridioides difficile*; *Paenicostridium sordellii*; toxinas; adhesiones celulares; adhesiones focales; uniones celulares; patogénesis.

ABSTRACT

Introduction: *Clostridioides difficile* and *Paenicostridium sordellii* are Gram-positive, anaerobic and spore-forming bacteria. *C. difficile* is the leading cause of antibiotic-associated diarrhea and *P. sordellii* is mainly reported in infections in pregnant women with toxic shock syndrome and in other infections in animals. Glycosyltransferase toxins are the main virulence factors of both bacteria, *C. difficile* produces toxins A and B (TcdA and TcdB) while *P. sordellii* produces lethal (TcsL) and hemorrhagic (TcsH) toxins. **Objective:** To provide a description of the mechanisms of action on cell adhesions of bacterial toxins with glycosyltransferase activity and their association with infections produced by *C. difficile* and *P. sordellii*. **Methods:** A review was carried out which sought to meet the following parameters: Only experimental articles published bet-

ween 2000 and 2021 in Spanish or English language. These articles were obtained from Google Scholar, Science Direct and Pubmed databases. Furthermore, the following keywords were included: *Clostridium difficile*, *Clostridium sordellii*, *Clostridioides*, *Paenicostridium*, cellular adhesion (focal, tight-adhesion), or toxins.

Results: TcdA, TcdB, TcsL and TcsH belong to the family of large glycosylating toxins, which have glycosyltransferase activity over monomeric GTPases. Eukaryotic cells maintain their structure and conformation thanks to cell adhesions, which include focal (extracellular cell-matrix) and tight (cell-cell) adhesion. The mechanism of action of these clostridial toxins is that they alter focal adhesion proteins such as Src, FAK, and paxillin, and for tight adhesion such as ZO-1, occludins, and the E-cadherin-catenin complex. This is due to mechanisms dependent on the glycosylation of GTPases and others that are not. The alteration of these adhesions interferes with the correct function of the epithelial barrier. As a result of these alterations induced by *C. difficile* toxins in eukaryotic cell junctions, a disruption of the intestinal epithelial barrier, increased inflammation, and permeability are observed, which exacerbates the clinical symptoms with complications such as pseudomembranous colitis. *P. sordellii* mainly affects the pulmonary epithelium, by increasing its vascular permeability allowing the passage of fluids to the lung parenchyma, leading to anoxia and even death by altering cellular adhesions.

Conclusion: The information available is not comprehensive, a fact that emphasizes the importance to continue researching on the subject. It is still unknown whether there are other proteins that are altered, as well as the mechanism by which they are altered. The study of different TcdBs is important due to the high variability of strains, which influences their expression, their specificity as a substrate or receptor, among other important aspects in the pathogenesis of this disease. All this to better understand the pathogenesis of clinical pictures by bacteria producing large clostridial toxins with glycosyltransferase activity.

Keywords: *Clostridioides difficile*; *Paenicostridium sordellii*; toxins; cell adhesions; focal adhesions; cell junctions; pathogenesis.

INTRODUCCIÓN

Clostridioides difficile y *Paeniclostridium sordellii* son bacterias anaerobias Gram-positivas, formadoras de esporas y productoras de toxinas; estas especies presentan un 71% de homología a nivel genómico.¹ *C. difficile* es un patógeno de importancia clínica a nivel mundial debido a que es el principal causante de diarrea intrahospitalaria asociada al uso de antibióticos. *C. difficile* coloniza el intestino grueso de algunos mamíferos, y secreta exotoxinas, siendo estas el principal factor de virulencia y las responsables del cuadro clínico. Usualmente es una bacteria que no produce enfermedad grave debido a la protección ejercida por la microbiota intestinal, pero cuando se produce una disbiosis intestinal, como con el uso de ciertos antibióticos, es capaz de colonizar y provocar un espectro de enfermedades intestinales que se identifican todas como infecciones por *C. difficile* (ICD), y presenta un espectro clínico que puede variar desde una diarrea moderada hasta una colitis pseudomembranosa severa.² En términos generales, la ICD se caracteriza por una inflamación del colon y un daño del tejido epitelial. El efecto neto es una disrupción del epitelio y una rápida pérdida de fluidos del lumen intestinal, lo cual se manifiesta como diarrea.² Se estima que es la enfermedad intestinal intrahospitalaria más frecuente.

Por otro lado, *P. sordellii* es comúnmente encontrada en el suelo o en el intestino de animales (en 1% de los humanos). Muchas de las cepas no son patógenas; sin embargo, esta especie tiene importancia clínica veterinaria. Adicionalmente, se han reportado infecciones en humanos, principalmente en mujeres que sufren abortos espontáneos.³ Se han descrito casos de infección en usuarios de drogas intravenosas,⁴ en casos postquirúrgicos no ginecológicos y de lesiones traumáticas, penetrantes o aplastantes en tejidos blandos en población general.⁵

Los principales factores virulencia de *C. difficile* y *P. sordellii* son las toxinas: las toxinas A y B de *C. difficile* (TcdA y TcdB) y las toxina letal (TcsL) y hemorrágica (TcsH) de *P. sordellii*. Estas se clasifican dentro de la familia de las toxinas grandes clostridiales (TGC).⁶ Las TGC son glicosiltransferasas con sustratos de acción específicos que monoglicosilan las GTPasas monoméricas en un residuo de treonina y este residuo per-

be la integridad del nucleótido GTP, el cual está unido a la GTPasa cuando está activa y se hidroliza a GDP lo que da la forma inactiva de la enzima. La glicosilación interviene en las funciones e interacciones que normalmente llevan a cabo estas enzimas.⁷ Este efecto de las toxinas induce la desorganización del citoesqueleto de actina, alteración de las uniones celulares, aumento de la permeabilidad de la barrera celular y una alteración de los epitelios debido a alteraciones en adhesiones entre células que eventualmente podría tener algunos efectos patológicos durante infecciones.⁸

MÉTODOS

Para abordar estos temas se realizó una revisión bibliográfica con los siguientes criterios de inclusión: artículos experimentales que fueron publicados en el periodo del 2000 al 2021, obtenidos de las bases de datos Google Scholar, Science Direct y Pubmed, en los idiomas español e inglés. Además, siguiendo una búsqueda con las palabras clave: *Clostridium difficile*, *Clostridium sordellii*, *Clostridioides*, *Paeniclostridium*, unión celular (adhesión focal, unión estrecha, unión adherente) y toxinas.

PROTEÍNAS DE LAS ADHESIONES CELULARES ALTERADAS POR TOXINAS CLOSTRIDIALES

Las TGC al alterar las GTPasas monoméricas afectan las diferentes estructuras y vías de señalización de células eucariotas. Uno de los blancos que afecta la acción de estas toxinas son las adhesiones celulares, como: las adhesiones estrechas (uniones adherentes y uniones fuertes) y las adhesiones focales (AF).⁹⁻¹¹ Por lo tanto, las AF se ven afectadas principalmente por las modificaciones de las proteínas Src, FAK y paxilina, las cuales son proteínas fundamentales para la formación del contacto focal de la célula (Fig. 1A) [6].

Por otro lado, las uniones estrechas (UE) y las uniones adherentes (UA) juegan un papel importante en la regulación de la función de diferentes epitelios, entre ellos la barrera intestinal. Adicionalmente, en las UE se ha determinado la afectación de las ocludinas, claudinas y ZO-1. Algunas de las proteínas de las UA que se han visto afectadas son las E-cadherinas y las cateninas (Fig. 1B).^{6,10}

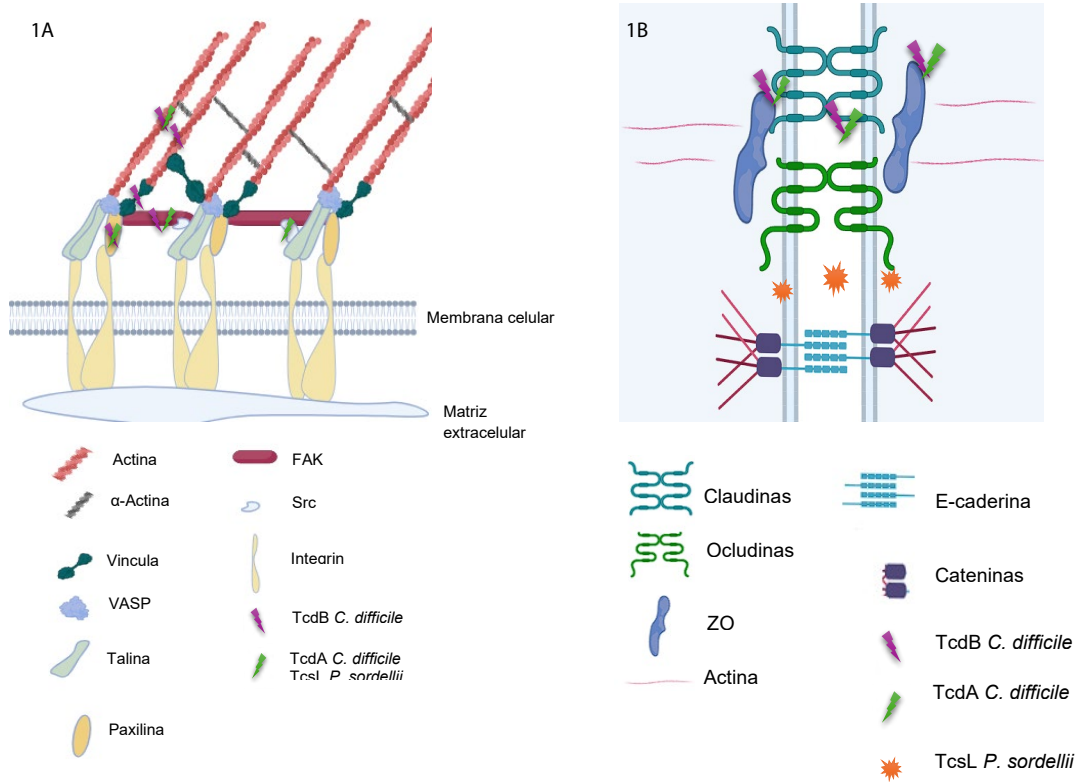


Figura 1. Principales proteínas de las adhesiones celulares alteradas o modificadas por toxinas de *C. difficile* o *P. sordellii*. A) Adhesiones focales y B) Uniones adherentes.

TOXINAS DE *C. DIFFICILE* Y LAS ADHESIONES CELULARES

Las proteínas pequeñas de unión a GTP de la súper-familia Ras son los principales blancos de las toxinas TcdA y TcdB. De estas los representantes claves para las toxinas son: RhoA, B y C; Rac1 y 2; y Cdc42. Las proteínas Rho son interruptores moleculares que participan en muchas formas diferentes de señalización en las células eucariotas, como: regulación del citoesqueleto, de la migración, de la fagocitosis y del tráfico intracelular. La formación de fibras de tensión por RhoA, la formación de lamelipodios por Rac y la formación de filopodios por Cdc42 son efectos prototípicos sobre el citoesqueleto de actina. Además, las proteínas Rho controlan la transcripción, la progresión del ciclo celular y la apoptosis.¹²

Las proteínas Rho son reguladas por un ciclo de GTPasa. Estas son inactivas cuando se unen a GDP y se activan cuando se unen a GTP. Muchas proteínas de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) par-

ticipan en el intercambio GDP/GTP y activan a Rho. Las proteínas Rho interactúan con múltiples efectores en su forma activa. Varias proteínas activadoras de GTPasas (GAPs) estimulan la hidrólisis de GTP para terminar el estado activo unido a GTP.¹²

Con respecto al efecto específico de TcdB sobre las adhesiones celulares, esta toxina inhibe la activación de FAK y paxilina por señalización del receptor muscarínico de acetilcolina (mAChR), la estimulación de estos receptores participa en cascadas de señalización que permiten la activación de GTPasas monoméricas mencionadas anteriormente (Rho, Rac y Cdc42), que a su vez provocan cambios en la estructura de actina y fosforilación de FAK.¹³

Además, se ha evidenciado que por medio de la inhibición de las proteínas Rho y Cdc42 con la TcdB, la fosforilación en residuos de tirosina de FAK y paxilina disminuye.¹³ Sin embargo, se encuentra que la desfosforilación de paxilina se da principalmente por la

inactivación de Rac1, debido a que la TcdB bloquea la actividad de FAK la cual fosforila paxilina [9]. Entonces, TcdB tiene el potencial de afectar las uniones celulares debido al papel protagónico que tienen las proteínas FAK y paxilina en estas.

Al analizar ensayos que se han realizado con líneas celulares, se ha observado que las uniones estrechas y las uniones adherentes se localizan en la periferia de las células; y ante la exposición de células T84 a TcdB, se observa por medio de microscopía confocal, que las proteínas ZO-1, ZO-2 y ocludina de las uniones estrechas se desplazan de la membrana lateral, pero no se identifican cambios en la distribución de la E-cadherina. Efectos análogos se observan con la TcdA. La redistribución de las uniones estrechas ocurre paralelo a la desorganización de actina.¹⁴

La alteración identificada en las uniones estrechas es meramente estructural, esto se evidencia mediante un análisis donde se refleja que la concentración de proteínas de las uniones estrechas, ante la exposición a TcdB, no difiere de la concentración de las células sin intoxicación, por lo que se sugiere que estas proteínas no son degradadas por la toxina.¹⁴ Adicionalmente, ZO-1 es una proteína asociada a las uniones estrechas, y en condiciones normales se encuentran en la periferia de las células; sin embargo, cuando esta se expone a TcdB, las proteínas ZO-1 pierden la asociación en las uniones estrechas y se distribuyen en grupos, por lo que se ha planteado que la TcdB disminuye la interacción de ZO-1 con actina.^{15,16}

Otro de los aspectos estudiados con relación a las proteínas de uniones celulares ha sido la influencia de TcdB en la interacción ocludina-caveolina y su asociación con las uniones estrechas mediante el uso de marcaje con oro y microscopía electrónica. Se ha reportado que el desensamblaje provocado por la TcdB se relaciona con la internalización de la ocludina desde la membrana lateral, además esta proteína se ha visto asociada a estructuras membranosas que contienen caveolina-1, como lo son las balsas lipídicas.¹⁷

Con respecto al efecto específico de TcdA, se ha encontrado que principalmente afecta a FAK y a paxilina y que la intoxicación de células con TcdA induce una interrupción de los complejos de adhesión focal. Además, Src es otra de las proteínas alteradas por TcdA, la cual tiene actividad kinasa en los colonocitos y esta actividad es inhibida, por lo que el resultado

en la célula es la pérdida de adhesiones focales.¹⁷ La formación de contacto focal mediada por integrinas requiere de la activación de quinasas de tirosina Src y FAK. FAK está involucrada en la señalización de las integrinas, las cuales median la formación de contacto focal pero requieren de la activación de las tirosin kinasas Src y FAK.¹⁸

Adicionalmente, las proteínas FAK y paxilina son inhibidas por TcdA, lo que también induce una interrupción o pérdida de adhesiones focales. Por otro lado, se ha reportado que la desfosforilación de FAK y paxilina es independiente de la glicosilación de las GTPasas monoméricas por la TcdA que lleva a la disrupción de los filamentos de actina.¹⁷ Además, en ensayos con cultivos celulares se ha descrito que durante la inhibición de la endocitosis por TcdA no se observa desfosforilación de paxilina, lo que sugiere que la defosforilación de FAK y paxilina es dependiente de la internalización de la TcdA en la célula [17]. Como se mencionó anteriormente, TcdA inhibe la acción de la proteína Src, lo cual a su vez resulta en desfosforilación de FAK y paxilina. La actividad de Src está regulada por fosforilación de tirosina en dos sitios Tyr-416 y Tyr-527. La fosforilación de Tyr-416 inicia el cambio conformacional de Src, lo que disminuye la barrera estérica para los sustratos; dicha inhibición ocurre por bloqueo del sitio catalítico en células expuestas a TcdA, lo que bloquea la actividad de Tyr-416.¹⁸

TOXINA LETAL DE *P. SORDELLII*

TcsL, al igual que TcdA y TcdB de *C. difficile*, altera la paxilina, efecto que es paralelo a la glicosilación de las GTPasas monoméricas. Asimismo, tiene efecto inhibitorio sobre las proteínas Src y FAK¹⁰, asociado principalmente a la inhibición de la glicosilación de Rac1 por la TcsL, lo que altera la actividad de la proteína FAK.¹⁹

Además, las toxinas TcsL82 y TcsL9048 están implicadas en la alteración de proteínas de las uniones adherentes. Estas toxinas inducen modificaciones en la distribución de la E-cadherina, la β -catenina y de la α -catenina de la periferia al citosol. En cuanto a las uniones estrechas se ha encontrado que el efecto que tienen las TcsL sobre las proteínas no es significativo.²⁰

Por otro lado, en células sin tratamiento con toxinas, las proteínas E-cadherina, β -catenina y α -catenina

se localizan en la periferia celular, pero cuando estas son expuestas a las TcsL sufren una reducción de manera discontinua y difusa, lo que sugiere que estas son redistribuidas de las uniones celulares al citoplasma de la célula.²⁰

ALTERACIONES DE ADHESIONES CELULARES Y SU RELACIÓN CON LA FISIOPATOLOGÍA DE LAS INFECCIONES

Se ha determinado que las toxinas de *C. difficile* pueden inducir un severo daño del intestino representado por criptas erosionadas y a menudo ausentes, ulceración de la mucosa y pérdida de células caliciformes. Además, se observa invasión de la lámina propia por células polimorfonucleares (PMN), hiperplasia de enterocitos y severo edema en la submucosa asociado con hemorragia.²

En este contexto, TcdA provoca el desprendimiento de las células de los tejidos de la mucosa intestinal porque interrumpe la distribución de la adhesión focal conformada por vinculina y talina. Este desprendimiento celular y la pérdida de uniones estrechas que asiste a una disrupción severa de la barrera intestinal inducen un aumento en la permeabilidad intestinal y la inflamación característica de la colitis producida por *C. difficile*.¹⁷

Además, TcdA y TcdB inducen parte de los síntomas observados en esta infección y están vinculadas, a nivel celular, con la desfosforilación de FAK y paxilina en los colonocitos. Como se describió anteriormente, este efecto es dependiente de la internalización de la toxina, pero es independiente de la glicosilación de Rho, por lo que esto muestra que existe un mecanismo distinto al asociado a la glicosilación de las GTPasas monoméricas por el cual se genera disrupción de la permeabilidad celular, en particular de las uniones estrechas, lo que puede llevar a una mayor patogenicidad en los pacientes con infección por *C. difficile*.¹⁹

La disrupción del epitelio intestinal está relacionada con la afectación sobre las proteínas de las adhesiones celulares producidas por las toxinas de *C. difficile*, por lo que este es uno de los mecanismos que pueden producir un cuadro clínico severo por este patógeno.

En cuanto a *P. sordellii*, la TcsL afecta las uniones adherentes por medio de remoción de los complejos E-cadherina-catenina de la membrana al citoplasma.¹⁷ La inactivación de GTPasas monoméricas especialmente de la proteína Rac lleva a la desorganización

de la actina, junto con la modificación descrita de las uniones adherentes, inducen un incremento de la permeabilidad, observado en la vasculatura pulmonar donde se encuentra una aumentada la efusión de fluido en el pulmón y en la pleura, lo que permite modificaciones de parámetros hematológicos, entre otros.² La extravasación de fluidos desde la sangre hacia la cavidad pleural, producida por la disrupción de los epitelios como efecto de la toxina, lleva a anoxia, y posteriormente a fallo respiratorio; interesantemente todo esto se da en ausencia de inflamación como efecto de las toxinas.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Las TGCs son el principal factor de virulencia de estas bacterias, las cuales son las responsables del desarrollo del cuadro clínico y de la severidad de este, por lo que es de suma importancia comprender los mecanismos fisiopatológicos producidos por estas bacterias en el organismo.

Adicionalmente, en esta revisión se resumen las principales proteínas de las adhesiones celulares para las cuales se ha reportado evidencia de que son alteradas o modificadas por acción de las TGCs de *C. difficile* y *P. sordellii*; por lo tanto, siendo parte fundamental de los mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades que producen. Estas incluyen proteínas de las adhesiones focales Src, FAK y paxilina, de las uniones estrechas como ZO-1 y ocludinas y el complejo E-cadherina-cateninas que forma parte de las uniones adherentes.

Con respecto a la influencia que tienen estas alteraciones sobre la patología que se desarrolla, se encuentra que el daño producido a estas adhesiones celulares se refleja como una pérdida en la permeabilidad de las barreras epiteliales y mucosas, lo que desencadena afectaciones importantes en el paciente, que pueden llevar a enfermedad severa e incluso a la muerte.

Sin embargo, se desconoce con exactitud y detalle todo el mecanismo por el cual otras proteínas de las uniones celulares se ven alteradas, si están o no asociadas y de ser el caso, de qué manera están asociadas con las GTPasas monoméricas, por lo que queda mucho por explorar en este campo y por entender al respecto de los efectos que estas toxinas tienen sobre las uniones celulares.

Adicionalmente, entre los artículos investigados existen pocos que evalúan la alteración de los diferentes subtipos de TcdB de *C. difficile* que podrían aportar a comprender el mecanismo completo de la alteración de las adhesiones celulares. En los únicos datos encontrados donde se analiza un subtipo de TcdB se realizó una comparación entre la TcdB de la cepa de referencia VPI10463 con la TcdB de una cepa del serotipo F 1470 (TcdBF, una toxina variante), y se reportó que TcdBF no induce la despolimerización de la F-actina por glicosilación de Rac1, pero al evaluar la integridad de las FA, no se observan los cambios que generan las toxinas. TcdBF al igual que TcdBVPI inducen la desfosforilación de paxilina.^{19,22} Lo anterior indica la importancia de que futuras investigaciones permitan comprender mejor el papel de distintos subtipos de TcdB de *C. difficile*.

En resumen, se considera importante evaluar la alteración de otras proteínas que forman parte de las adhesiones celulares que no han sido mencionadas y que no se describen en la literatura analizada para esta revisión; como, por ejemplo: proteínas de las adhesiones focales (integrinas, talina, vinculina, α -actinina, tensina, plectina y zyxina). En cuanto a las uniones fuertes, se deberían estudiar con mayor profundidad también proteínas de las uniones estrechas como la cingulina. Además, de las uniones adherentes hay muchas otras cadherinas diferentes de la clásica, así como la γ -catenina o plakoglobulina, la plakofilina y la desmoplakina. Todo lo anterior podría significar una fuente de información que a futuro permita describir los ejes que llevan al desensamblaje de las adhesiones celulares y sus consecuencias que se traducen en el mecanismo de patogenia de la enfermedad causada por estas bacterias.

Declaración de conflicto de intereses: el autor declara no tener ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. **Scaria J, Suzuki H, Ptak C, Chen JW, Zhu Y, Guo XG, et al.** Comparative genomic and phenomic analysis of *Clostridium difficile* and *Clostridium sordellii*, two related pathogens with differing host tissue preference. *BMC Genomics*. 2015;16:448. doi.org/10.1186/s12864-015-1663-5
2. **Carter GP, Chakravorty A, Pham A, Mileto S, Schreiber F, Li L, et al.** Defining the roles of TcdA and TcdB in localized gastrointestinal disease, systemic organ damage, and the host response during *Clostridium difficile* infection. *mBio*. 2015;6(3):1–10. doi: 10.1128/mBio.00551-15.Invited
3. **Vidor C, Awad M, Lyras D.** Antibiotic resistance, virulence factors and genetics of *Clostridium sordellii*. *Anaerobe*. 2015;166(4):368-374. doi.org/10.1016/j.resmic.2014.09.003.
4. **Kimura AC, Higa JI, Levin RM, Simpson G, Vargas Y, Vugia DJ.** Outbreak of Necrotizing Fasciitis Due to *Clostridium sordellii* among Black-Tar Heroin Users. *Clinical Infectious Diseases*. 2004;38(9):e87–e91. doi.org/10.1086/383471
5. **Aldape MJ, Bryant AE, Stevens DL.** *Clostridium sordellii* Infection: Epidemiology, Clinical Findings, and Current Perspectives on Diagnosis and Treatment. *Clinical Infectious Diseases*. 2006;43(11):1436–1446. doi.org/10.1086/508866
6. **Popoff MR.** *Clostridium difficile* and *Clostridium sordellii* toxins, proinflammatory versus anti-inflammatory response. *Toxicon*. 2018;149:54–64. doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.11.003
7. **Jank T, Aktories K.** Structure and mode of action of clostridial glucosylating toxins: the ABCD model. *Trends in Microbiology*. 2008;16(5):222–229. doi.org/10.1016/j.tim.2008.01.011
8. **Chen S, Sun C, Wang H, Wang J.** The role of Rho GTPases in toxicity of *Clostridium difficile* toxins. *Toxins*. 2015;7(12):5254–5267. doi.org/10.3390/toxins7124874
9. **Boehm C, Gibert M, Geny B, Popoff MR, Rodriguez P.** Modification of epithelial cell barrier permeability and intercellular junctions by *Clostridium sordellii* lethal toxins. *Cellular Microbiology*. 2006; 8(7):1070–1085. doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00687.x
10. **Geny B, Grassart A, Manich M, Chicanne G, Payras-tre B, Sauvonnnet N, et al.** Rac1 inactivation by lethal toxin from *Clostridium sordellii* modifies focal adhesions upstream of actin depolymerization. *Cellular Microbiology*. 2010;12(2):217–232. doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01392.x
11. **Yeh CY, Lin CN, Chang CF, Lin CH, Lien HT, Chen JY, et al.** C-terminal repeats of *Clostridium difficile* toxin a induce production of chemokine and adhesion molecules in endothelial cells and promote migration of leukocytes. *Infection and Immunity*. 2008;76(3):1170–1178. doi.org/10.1128/IAI.01340-07
12. **Aktoires K, Schwan C, Jank T.** *Clostridium difficile* toxin biology. *Annual Review of Microbiology*. 2017;71:281–307. doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093458
13. **Linseman DA, Hofmann F, Fisher SK.** A role for the small molecular weight GTPases, Rho and Cdc42, in muscarinic receptor signaling to focal adhesion kinase.

- Journal of Neurochemistry. 2000;74(5):2010–2020. doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0742010.x
- 14. Nusrat A, Madara JL, Parkos CA.** *Clostridium difficile* Toxins Disrupt Epithelial Barrier Function by Altering Membrane Microdomain Localization of Tight Junction Proteins. *Infection and Immunity*. 2001; 69(3):1329–1336. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.3.1329>
- 15. Zemljic M, Rupnik M, Scarpa M, Anderluh G, Palù G, Castagliuolo I.** Repetitive domain of *Clostridium difficile* toxin B exhibits cytotoxic effects on human intestinal epithelial cells and decreases epithelial barrier function. *Anaerobe*. 2010;16(5):527–532. doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.06.010
- 16. Pourliotopoulou E, Karampatakis T, Kachrimani-dou M.** Exploring the toxin-mediated mechanisms in *Clostridioides difficile* infection. *Microorganisms*. 2024;12(5):1004.
- 17. Kim H, Rhee SH, Pothoulakis C, LaMont JT.** *Clostridium difficile* toxin A binds colonocyte Src causing dephosphorylation of focal adhesion kinase and paxillin. *Experimental Cell Research*. 2009;315(19):336–3344. doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.05.020
- 18. Cheng SYS, Sun G, Schlaepfer DD, Pallen CJ.** Grb2 Promotes Integrin-Induced Focal Adhesion Kinase (FAK) Autophosphorylation and Directs the Phosphorylation of Protein Tyrosine Phosphatase by the Src-FAK Kinase Complex. *Molecular and Cellular Biology*. 2014;34(3):348–361. doi.org/10.1128/mcb.00825-13
- 19. May M, Wang T, Müller M, Genth H.** Difference in F-actin epolymerization induced by toxin B from the *Clostridium difficile* strain VPI 10463 and toxin B from the variant *Clostridium difficile* serotype F strain 1470. *Toxins*. 2013;5(1):106–119. doi.org/10.3390/toxins5010106.
- 20. Boehm C, Gibert M, Geny B, Popoff MR, Rodriguez P, Kidney MC.** Modification of epithelial cell barrier permeability and intercellular junctions by *Clostridium sordellii* lethal toxins. *Cellular Microbiology*. 2006;8(7):1070–1085. doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.006870.x
- 21. Geny B, Khun H, Fitting C, Zarantonelli L, Mazuet C, Cayet N, et al.** *Clostridium sordellii* lethal toxin kills mice by inducing a major increase in lung vascular permeability. *American Journal of Pathology*. 2007;170(3):1003–1017. doi.org/10.2353/ajpath.2007.060583
- 22. Chaves-Olarte E, Freer E, Parra A, Guzmán-Verri C, Moreno E, Thelestam M.** R-Ras glucosylation and transient RhoA activation determine the cytopathic effect produced by toxin B variants from toxin A-negative strains of *Clostridium difficile*. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(10):7956–7963. doi.org/10.1074/jbc.M209244200