



ROL DE LA INFLAMACIÓN MEDIADA POR HELICOBACTER PYLORI EN EL DESARROLLO DE CÁNCER GÁSTRICO

Plan de trabajo – Metodología Científica II

Integrantes: Agustín Macció, Nicolás Oromí, M^a Soledad Rama, Matías Rodríguez

Orientador: María Moreno

Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen.....	Pág. 3
Justificación del trabajo.....	Pág. 3
Metodología de trabajo.....	Pág. 5
Introducción.....	Pág. 5
Etiopatogenia.....	Pág. 7
Inflamasoma.....	Pág. 9
Antibioticoterapia.....	Pág. 16
Vacunas.....	Pág. 18
Conclusión.....	Pág. 22
Bibliografía.....	Pág. 23

Resumen

La infección con *Helicobacter pylori* es el principal factor de riesgo para desarrollar cáncer gástrico.

Existe una asociación entre factores determinantes de la infección por *H. pylori* y la respuesta inmune inducida. La virulencia bacteriana está asociada a los genes *cagA*, *vacA*, *babA*, *sabA* y *dupA*, los cuales juegan un papel fundamental en la patogénesis de *H. pylori* los cuales activan el factor de transcripción nuclear (NF)- κ B y citoquinas pro- y anti-inflamatorias. Esta inflamación podría inducir la carcinogénesis mediante la alteración de los procesos de expresión génica celular, la evasión del mecanismo de defensa del huésped, y el aumento de las respuestas inflamatorias e inmunes.

El inflamasoma, un complejo multiproteico intracelular implicado en el control, maduración y secreción de IL-1 β y IL-18 a través de la activación de Caspasa-1, juega un rol fundamental en la respuesta inmunitaria a *H. pylori*, y en el control de la infección por esta bacteria.

Como resultado de aumento de la resistencia a los antibióticos, la terapia triple convencional ya no es la terapia estándar para la infección de *H. pylori*.

Justificación del trabajo

El cáncer gástrico es el cuarto y el quinto cáncer más frecuente en hombres y mujeres, respectivamente; y la segunda causa de muerte por cáncer en el mundo. En Uruguay, el mayor pico de incidencia fue de 14,3 y 6,4; con una mortalidad registrada de 11,3 y 4,6 cada 100.000 hombres y mujeres, respectivamente (1).

La infección crónica por *H. pylori* es la causa principal de cáncer gástrico. Está bien establecido que la infección por *H. pylori* contribuye en gran medida a la carcinogénesis del cáncer gástrico. Más de 50% de la población mundial está infectada con *H. pylori*. Entre el 10 y 15% de los individuos infectados con *H. pylori* desarrollan úlceras pépticas, y el riesgo de cáncer gástrico se estima que es de aproximadamente 1 a 3% (1).

La transmisión horizontal es el modo predominante en los países en desarrollo y a través de los miembros de la familia en los países industrializados. La transmisión de persona a persona de esta infección puede ocurrir por vía fecal-oral u oral-oral. También se ha reportado transmisión ambiental a través de un suministro de agua contaminada (1).

La gastritis crónica asociada con la infección por *H. pylori* constituye un factor importante de riesgo en relación con el carcinoma gástrico. El riesgo es particularmente alto en individuos con gastritis crónica limitada al píloro y antro gástrico. La gastritis se acompaña, en general, de atrofia gástrica intensa y metaplasia intestinal, que finalmente evoluciona a displasia y cáncer (1).

La inflamación crónica inducida por *H. pylori* puede liberar especies reactivas del oxígeno que acabarán produciendo daño del ADN, provocando un desequilibrio entre proliferación celular y apoptosis, sobre todo en zonas de reparación tisular (1).

En este trabajo nos proponemos revisar como la inflamación inducida por *H. pylori* puede influir en el desarrollo de cáncer gástrico, y las estrategias que se están desarrollando para su tratamiento (1).

Metodología de trabajo

Se realizaron actividades presenciales cada 15 días hasta finalizar el trabajo.

En el primer mes se planteó y discutió una introducción a la temática a abordar, familiarizándose con las distintas herramientas de búsqueda bibliográfica, páginas de acceso a bibliografía y una primera aproximación a la lectura de trabajos científicos.

En el segundo mes se comenzó a delinear el trabajo monográfico, con una lectura más profunda del tema, y se inició la escritura del mismo.

En el tercer mes se redondeó la escritura del trabajo con información del tema recabada de artículos originales. En esta instancia se implementó el uso de herramientas informáticas de referencias bibliográficas.

Para comienzo del cuarto mes, se concluyó el trabajo monográfico, y el mismo se editó en el formato final solicitado.

Para la búsqueda bibliográfica de artículos científicos y revisiones, se utilizaron buscadores como Pubmed y Portal Timbó. En una primera instancia se buscó información general del tema a abordar y luego se profundizó sobre el inflamasoma y su relación con la respuesta inmunitaria ante *Helicobacter Pylori*. También se utilizaron libros de texto reconocidos académicamente, y se buscó en muchos casos la bibliografía científica citada en los mismos.

Introducción

El cáncer gástrico es el cuarto cáncer más frecuente y el segundo cáncer con mayor mortalidad en el mundo. Prevalece en los países asiáticos. De acuerdo con la American Cancer Society, aproximadamente 738.000 personas murieron en todo el mundo por cáncer de estómago en 2008 (2).

En la actualidad, no hay tratamiento eficaz disponible para esta enfermedad, y la identificación de cáncer gástrico en etapas tempranas es difícil porque a menudo es asintomático hasta estadios avanzados de la enfermedad (2).

Por otra parte, el pronóstico de los pacientes con cáncer gástrico avanzado es malo debido a su alta recurrencia metastásica. Actualmente, el diagnóstico precoz del cáncer gástrico humano o recurrencia del tumor se basa principalmente en la endoscopia, biopsia y examen anátomo-patológico. La endoscopia es un método ampliamente utilizado para la detección del tumor en etapas tempranas del mismo (2).

En los últimos años, se han descubierto biomarcadores, nuevas herramientas serológicas, que son utilizados como pruebas de screening en los países desarrollados. Sin embargo, estos biomarcadores séricos no son eficaces como otros métodos de detección, dada su baja especificidad y sensibilidad (2).

Recientemente, datos epidemiológicos de interés han revelado que *Helicobacter Pylori* junto a una “dieta inadecuada” resultan ser los principales factores de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico (2).

La infección por esta bacteria es de distribución mundial. Se considera infrecuente en niños menores de 10 años en países desarrollados, pero es muy prevalente en niños de países en vías de desarrollo (2).

Datos epidemiológicos estiman un porcentaje de infección del 30% en países desarrollados y 80% en subdesarrollados, el cual aumenta con la edad y en individuos de medio socioeconómico bajo. No contamos con datos epidemiológicos específicos de Uruguay pero sí de Montevideo: la prevalencia en Montevideo es intermedia (46%) manteniendo las mismas características epidemiológicas (Estudio de prevalencia de la infección por *Helicobacter Pylori* en una población de Montevideo / Prevalence study of *Helicobacter* infection in a Montevideo population). Se considera globalmente que el 75% de las personas a la edad de 45 años ya estarían infectados (datos sobre

población española). Los seres humanos son la única fuente de infección y aunque no se conoce con exactitud el modo de transmisión, lo más probable es que se realice de forma fecal-oral (3).

Etiopatogenia

La colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori* induce invariablemente una reacción inflamatoria de carácter agudo y difuso en el cuerpo y antro gástrico, que posteriormente evoluciona hacia la cronicidad. Entre un 1 y 3% de los casos, la gastritis crónica progresa a atrofia gástrica, a menudo asociada a metaplasia intestinal, un tipo de lesión premaligna (2).

Diversos estudios epidemiológicos, histopatológicos y serológicos efectuados en distintos continentes establecen una relación entre la infección por esta bacteria y el desarrollo posterior de cáncer gástrico, sobre todo del tipo intestinal y localización antral.

El riesgo relativo de desarrollar cáncer entre los sujetos infectados por esta bacteria es de tres a seis veces superior al de las personas no infectadas. No obstante, se estima que únicamente un 0,5% de los individuos colonizados por *H. pylori* desarrollará carcinoma de estómago (3).

La baja incidencia de cáncer gástrico en sujetos infectados ha dificultado la obtención de evidencias directas que avalen el papel de la erradicación de esta infección en la profilaxis de esta neoplasia (3).

El presente trabajo describe la asociación entre factores determinantes de la infección por *H. pylori* y la respuesta inmune inducida. La infección por este microorganismo puede causar enfermedades graves tales como gastritis atrófica, úlcera péptica, linfoma del tejido linfoide asociado a la mucosa o adenocarcinoma gástrico.

La virulencia bacteriana está asociada a los genes *CagA*, *VacA*, *BabA*, *SabA* y *DupA*, los cuales juegan un papel fundamental en la patogénesis de *H. pylori*, generando cambios en la morfología celular y un aumento de la proliferación bacteriana. Los receptores del tipo Toll del huésped interactúan con estos factores de virulencia, induciendo el reclutamiento de una amplia variedad de células y mediadores inflamatorios, y la activación del factor de transcripción factor nuclear (NF)- κ B y citoquinas pro- y anti-inflamatorias (1).

Asimismo, NF- κ B regula la expresión de varios genes, algunos de los cuales están asociados con la inflamación y el cáncer. La presencia de estas bacterias también afecta la vía de STAT3 que regula el crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis, en el que una alta expresión de STAT3 se asocia con etapa avanzada y mal pronóstico del cáncer gástrico (1).

Como consecuencia de la inflamación generada por la infección de *H. pylori*, se activa la transcripción de genes implicados en los mecanismos de defensa. Esta inflamación podría inducir la carcinogénesis mediante la alteración de los procesos de expresión génica celular, la evasión del mecanismo de defensa del huésped, y el aumento de las respuestas inflamatorias e inmunes.

H. pylori es capaz de modular la expresión de mRNAs en la mucosa gástrica no cancerosa que tienen como blanco a citoquinas y otros mediadores de la respuesta inmune. Esto le permite a la bacteria permanecer en el estómago en alta concentración y por un largo tiempo, lo que indica que la respuesta inmune del huésped no es eficaz en la eliminación del patógeno. La erradicación de las bacterias puede ser una estrategia para la restauración de los niveles normales de estos mRNAs en la mucosa gástrica en etapas tempranas de la transformación maligna (1).

Inflamasoma

Existe una importante asociación entre la desregulación de la actividad de los inflamasomas y la adquisición y la heredabilidad de enfermedades inflamatorias, que destaca la importancia de la respuesta inmune iniciada por este complejo (4).

El sistema inmunitario funciona como una sofisticado maquinaria que censa constantemente señales de peligro. Debe coordinar una respuesta de defensa efectiva contra microorganismos o señales de daño producidas por el propio huésped, pero evitar daños colaterales y respuestas innecesarias a motivos antigénicos como los del propio huésped, los de su dieta o de su flora comensal (4).

Los inflamasomas son moléculas de alto peso molecular que se ensamblan y formando un complejo capaz de procesar y activar caspasa-1, que a su vez controla la maduración y la secreción de interleuquinas, como IL-1 β e IL-18. Estas citoquinas potencian las respuestas proinflamatorias por parte del huésped en la respuesta a infecciones o daño (4).

Los receptores de reconocimiento de patrones (PPRs) como los receptores tipo NOD (NLRs) tienen la capacidad de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), y también patrones moleculares asociado a peligro (DAMPs). La unión a sus ligandos permite el ensamblaje de un conjunto de proteínas que se auto-oligomerizan, formando el inflamasoma. La actividad de varios miembros de familias de NLR ha sido demostrada *in vitro*. En contraposición, hasta la fecha solo se ha podido demostrar la actividad *in vivo* de pocos NLR, como por ejemplo NLRP1, NLRP3 e IPAF (4).

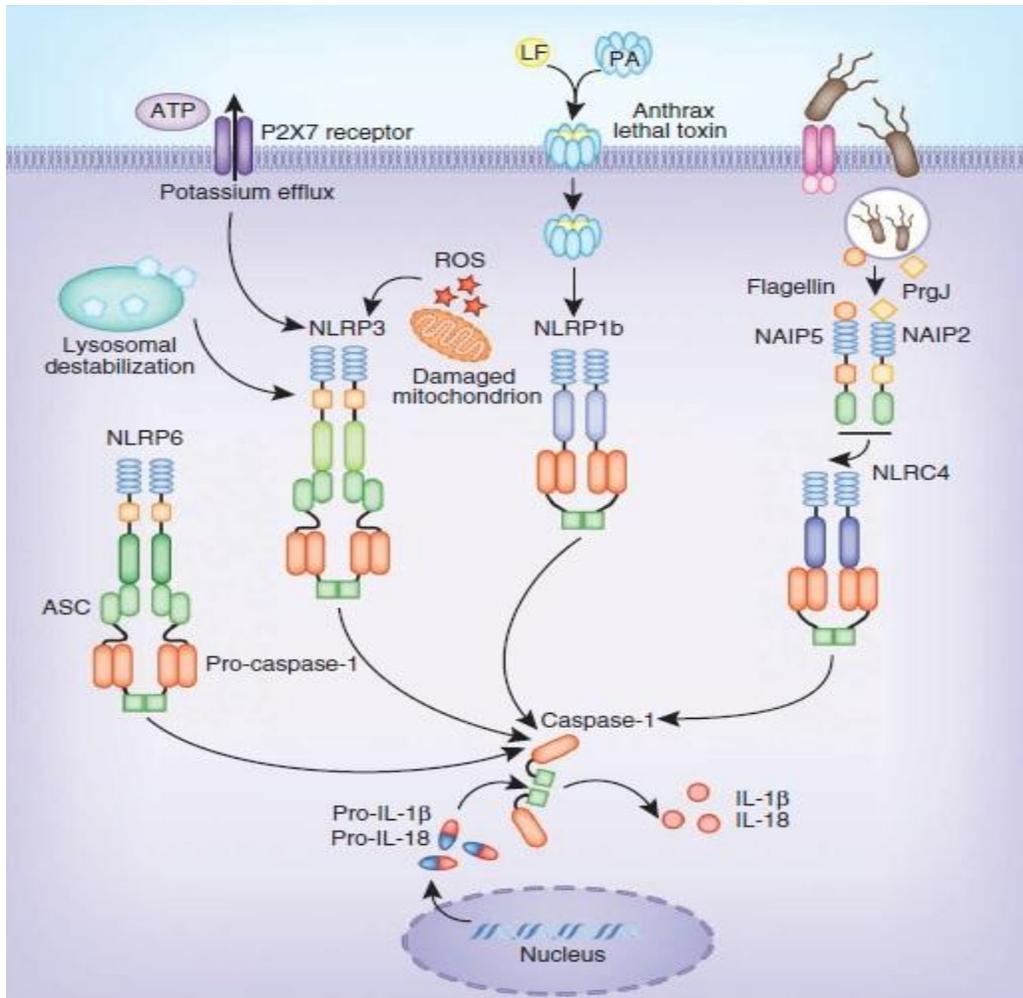


Figura 1. Extraído de Rathinam y col. (5)

Mecanismos básicos de activación de los principales inflammasomas NLR.

NLRP3 es activado por tres eventos celulares disparados por distintos estímulos: eflujo del potasio, la generación de especies reactivas del oxígeno ROS; desestabilización del fagosoma y la liberación de mediadores endógenos en el citosol. NLRP1b es activado por la toxina letal del anthrax. En el ratón, NLRC4 es activado por proteínas NAIP unidas a ligandos específicos. NAIP5 y NAIP6 unido a flagelina bacteriana, donde NAIP2 unida a el componente bacteriano T3SS PrgJ. Estos complejos ligandos-NAIP subsecuentemente unen y activan NLRC4. LF factor letal; PA antígeno protector.

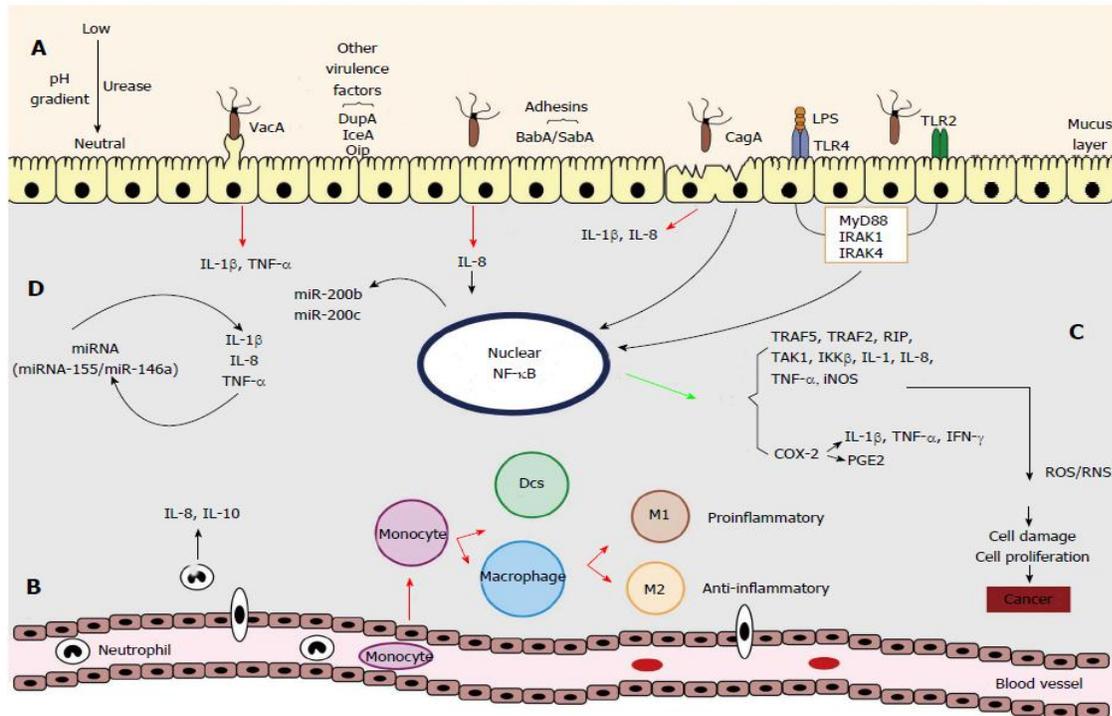


Figura 2. Extraído de Cadamuro y col. (1)

Patogénesis de la respuesta inmunitaria del huésped a infección por *Helicobacter pylori*. **A:** La ureasa bacteriana neutraliza el pH gástrico, lo que permite a la bacteria moverse en la capa de moco y colonizar las células epiteliales gástricas. La adhesión al epitelio gástrico está mediada por las adhesinas BabA y SabA, permitiendo la liberación de los factores de CagA y VacA en las células huésped, lo que provoca una fuerte respuesta inmune sistémica y la inflamación de la mucosa gástrica. El LPS de *Helicobacter pylori* es reconocido por los receptores del tipo Toll, principalmente TLR4 y TLR2, los cuales en cooperación con la molécula adaptadora MyD88 asociado con IRAK1 y IRAK4 conducen a la activación del factor de transcripción NF- κ B, activando vías de respuesta inflamatoria. **B:** La respuesta inmune se activa también, con el reclutamiento de células inflamatorias en el sitio de la infección, induciendo la producción de diversos mediadores pro-y anti-inflamatorios. **C:** Después de la activación de NF- κ B, se produce la rápida expresión de múltiples citoquinas pro-inflamatorias y quimioquinas tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y las interleuquinas, y en consecuencia la activación de vías oncogénicas que puede culminar en el cáncer. **D:** Frente a la infección por *H. pylori*, se modifica la expresión de algunos micro RNAs y, en consecuencia, la respuesta inmune del huésped se regula. LPS: lipopolisacáridos; IL: interleuquina; COX-2: ciclooxigenasa-2; RNS: especies reactivas de nitrógeno; ROS: especies reactivas del oxígeno; IFN: Interferón

La activación de caspasa-1 dada por el autoensamblaje del Inflamasoma es esencial para el control de numerosas bacterias Gram-negativas y Gram-positivas.

Se ha observado que caspasa-1 posee tanto propiedades proinflamatorias como reguladoras frente a la infección por *Helicobacter pylori*, las cuales son mediadas de forma diferencial por sus sustratos IL-1 β e IL-18 (6).

Ratones deficientes en caspasa-1 (caspasa-1^{-/-}) inmunizados con una vacuna consistente en sonicado de células enteras de *H. pylori* con toxina colérica como adyuvante, en régimen de tres dosis consecutivas separadas una semana cada una, son menos capaces de controlar una infección desafiante de *H. pylori* que los ratones salvajes. A su vez presentan bajos niveles de leucocitos y de células T CD4⁺, aunque sorprendentemente presentan niveles normales de IFN- γ e IL-17. Lo que demuestra su ineficiencia para crear una respuesta inmunitaria protectora a la infección (6).

Sin embargo, en ausencia de prima inmunización, los ratones caspasa-1^{-/-} controlan la infección más eficientemente que su contraparte salvaje, siendo colonizados por una carga bacteriana menor. Esta respuesta se correlaciona con elevados niveles de IL-17 a nivel gástrico similares a su contraparte vacunada. Los ratones caspasa-1^{-/-} presentan una mayor inflamación gástrica y más lesiones preneoplásicas que los ratones salvajes (6).

En cuanto a los sustratos de la caspasa-1 refiere, IL-1 β es requerida para una respuesta protectora frente a la infección por *H. pylori* en ratones vacunados. Los ratones IL-1^{-/-} presentan fuertes reducciones en la expresión de IFN- γ e IL-17, y bajos niveles de leucocitos CD45⁺ y células T CD4⁺. Por su parte, IL-18 es requerida para regular la actividad de caspasa-1, inmunosuprimiéndola. Los ratones IL-18^{-/-} infectados por *H. felis* presentan una respuesta acelerada y potenciada frente a la infección, acompañada de una carga bacteriana colonizante más baja y niveles de IL-17 más altos, sugiriendo que esto se debe a una respuesta excesiva del sistema inmune

derivado a una respuesta del tipo Th17. En resumen, la citoquina IL-1 promueve inmunidad e IL-18 regula la respuesta inmune excesiva (6).

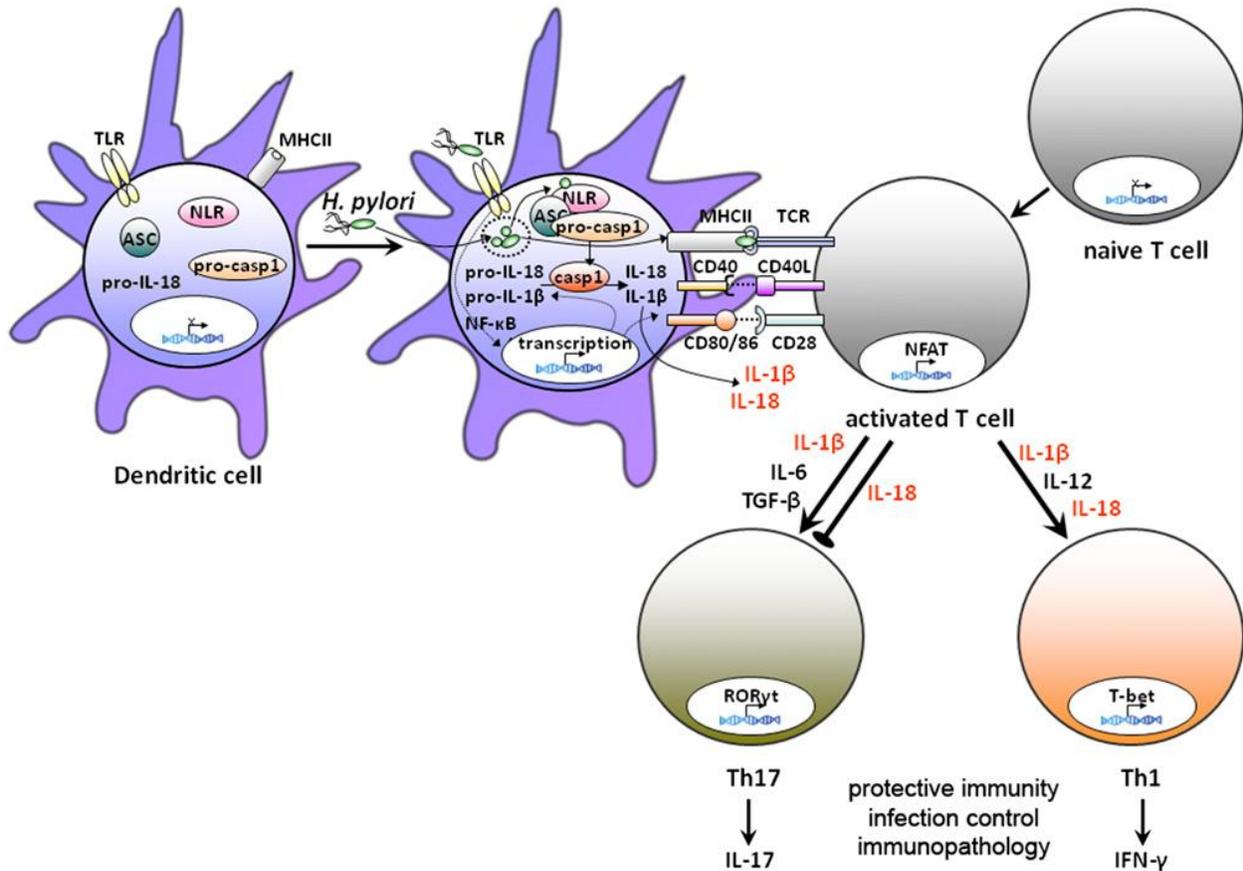


Figura 3

Extraído de Hitzler y col. (6)

Esquema que resume los efectos de Caspasa-1 inducida por la activación *Helicobacter* en la diferenciación de células Th. Al encontrarse las células dendríticas (otras células presentadoras de antígeno podrían ser importantes) con *Helicobacter*, la fagocitan y presentan sus antígenos en la superficie a través del MHC clase II. En adición, *Helicobacter* PAMPs activa TLRs u otros receptores de reconocimiento de patrón para inducir la transcripción de genes IL-1β. En contraste, pro-IL18 no es transcripcionalmente inducida pero si preformada y almacenada en células dendríticas vírgenes. Adicionalmente PAMPs son detectados por NLRs citoplasmáticos y activan procaspasa-1, quien es auto catalíticamente procesado clivando pro-IL-18 y pro-IL-1β para generar las citoquinas maduras. Ambas citoquinas deben ser producidas para la eficiente inducción de la diferenciación Th1 de células T *Helicobacter* específicas. IL-1β

luego promueve la diferenciación Th17 en un proceso que es eficientemente bloqueado por IL-18 bajo condiciones especiales de experimentación. Una primovacunación sobre dirige los efectos reguladores de IL-18 y promueve inmunidad protectora, dirigiendo a la limpieza o al menos a una significativa reducción de la carga bacteriana. Ambos subsets de Th son requeridos para una inmunidad protectora y probablemente para la inmunopatología asociada a la infección (6).

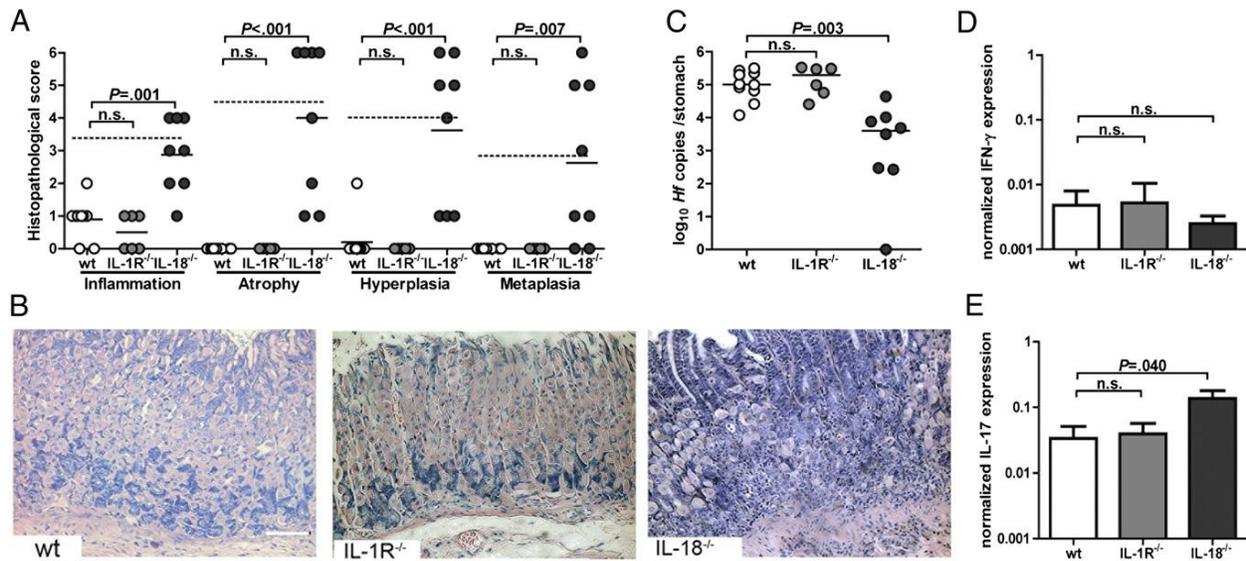


Figura 4

Extraído de Hitzler y col. (6)

La actividad reguladora de la caspasa-1 está mediada por IL-18. (A) Las puntuaciones histológicas asignadas al tipo salvaje, IL-1R^{-/-}, e IL-18^{-/-} en ratones infectados con *Helicobacter felis* durante 1 mes. Las líneas discontinuas representan los valores medios para la caspasa-1^{-/-} en ratones (de la figura 3B.) Para la comparación; cada símbolo representa un ratón. (B) Micrografías representativas de Giemsa de un ratón por grupo. Escala de la barra 50 micrasm. (C). Colonización de *H. felis* determinada por PCR cuantitativa, por el gen *flaB*. El Tiempo real de los resultados de RT-PCR para IFN-γ (D) e IL-17 (E) expresados en la mucosa gástrica de los ratones que se muestran en (A) - (C), normalizados a GAPD

**Helicobacter Felis*, es una cepa bacteriana relativa a *Helicobacter Pylori*. De la cual se sabe coloniza al rato persistentemente e induce de manera eficiente gastritis crónica y patología preneoplásicas gástricas.

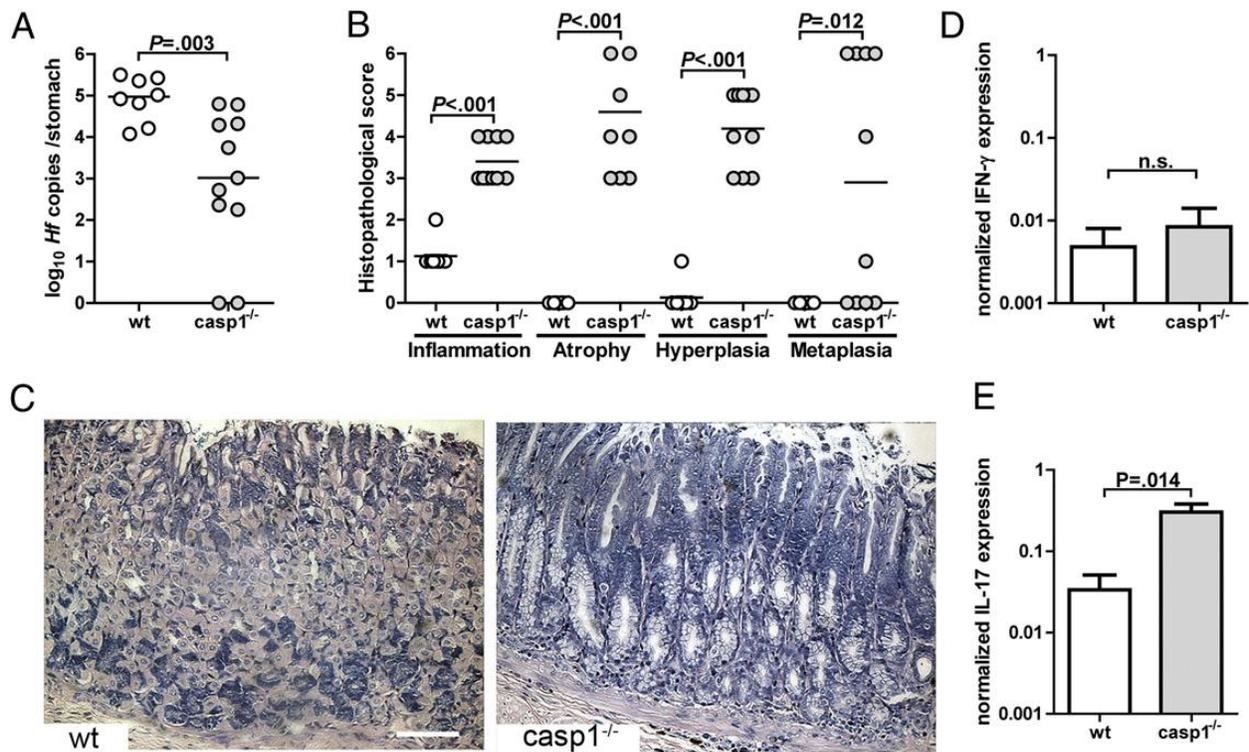


Figura 5

Extraído de Hitzler y col. (6)

La falta de caspasa-1 mejora el control espontáneo de la infección por *Helicobacter* y agrava su inmunopatología.

(A) Niveles de colonización, determinados por PCR cuantitativa del gen *flaB* de *H. felis*, para tipo salvaje y caspasa-1^{-/-} en ratones infectados con *H. felis* a 1 mes. Las medias son indicadas con líneas horizontales; cada símbolo representa un ratón. (B) escore histológico asignado a cada ratón mostrado en (A) referenciado en una escala de 0-6. (C)

Micrografía representativa en giemsa de un ratón infectado por *H. felis* del tipo salvaje en el (panel izquierdo) y otro caspasa-1^{-/-} (panel de la derecha). Escala de la barra 50 μm. Resultados del RT-PCR para IFN-γ gástrico. (D) y IL-17 (E) expresado en el ratón mostado en (A) y (B) normalizado para GAPDH.

Antibioticoterapia

En el presente trabajo examinamos los avances en el conocimiento de las diferentes estrategias en el tratamiento de la infección por *H. pylori*. Como resultado de aumento de la resistencia a los antibióticos, la terapia triple convencional ya no es la terapia estándar para la infección de *H. pylori*. Esta terapia basada en un inhibidor de la bomba de protones (IBP), más amoxicilina y claritromicina, ha sido el régimen de tratamiento de primera línea utilizado durante muchos años en todo el mundo para la erradicación de *H. pylori*. Sin embargo, en los últimos años la eficacia de este tratamiento ha caído por debajo del 80% debido al aumento de resistencia bacteriana a los antibióticos (7).

En un intento por mejorar la terapia de primera línea se compararon varias estrategias de tratamiento: la triple terapia con mayor duración y la terapia cuádruple con bismuto. En el primer caso se observó que la continuación del tratamiento más allá de los 7 días no aportaba ningún beneficio. En el segundo caso se demostró su eficacia como régimen de terapia de rescate en los casos en que fracasa la triple terapia estándar, y actualmente es tratamiento de segunda línea en muchos países. El régimen consiste en IBP, bismuto, tetraciclina y metronidazol (7).

En este contexto, nuevas combinaciones con bismuto de terapias cuádruple en régimen de dos semanas mostraron resultados alentadores. Así, las terapias consistentes en IBP, amoxicilina, claritromicina y bismuto, e IBP, amoxicilina, moxifloxacina y bismuto lograron una tasa de erradicación del 90,7 y 92% respectivamente como tratamientos de primera línea (7).

En un meta-análisis sobre el efecto de la resistencia a los antibióticos, se concluyó que las terapias cuádruples que contienen tanto claritromicina y metronidazol fueron las más eficaces: > 80% de tasa de erradicación de la infección *H. pylori*. Las terapias cuádruples sin bismuto que constan de IBP, amoxicilina, claritromicina y nitromidazole podría ser la clave como un nuevo régimen de primera línea estándar (7).

Además, se analizó la efectividad de una terapia secuencial que consiste en 5 días de tratamiento con un IBP más amoxicilina, seguido por 5 días de tratamiento triple con IBP, claritromicina y nitromidazole. En ensayos realizados previos al 2008, se observó que la terapia secuencial tenía una tasa de erradicación de 91%-93,4% en comparación con el régimen triple estándar en el 75,5%-76,9%. Sin embargo, en estudios más recientes, la tasa de éxito del régimen secuencial mostró ser inferior a la obtenida en los ensayos anteriores. El mayor obstáculo de la terapia secuencial puede estar relacionado con el uso de un gran número de antibióticos, lo que lleva a que los pacientes tengan una mala adherencia al tratamiento (7).

Cabe destacar que tanto la terapia secuencial como la terapia concomitante (IBP, amoxicilina, claritromicina y metroimidazol) han demostrado superioridad sobre la triple terapia, especialmente en los casos de resistencia a la claritromicina, con tasas de erradicación del 75% y 95%, respectivamente (7).

Por último se ha estudiado la eficacia de la terapia híbrida que consiste en IBP y amoxicilina durante 10 a 14 días, con la adición de claritromicina y metronidazol durante 5-7 días. Esta combinación de ambas terapias tuvo una tasa de erradicación del 92% (7).

Como tratamiento de segunda línea, llamada terapia de rescate ante el fracaso de la triple terapia, se recomienda la aplicación de la terapia cuádruple con bismuto que presenta una tasa de erradicación del 55 - 69,1%. Las terapias sin bismuto son poco eficaces como tratamiento de segunda línea. Además, en aquellas zonas de alta resistencia a claritromicina se recomienda una combinación de la terapia cuádruple basada en la levofloxacina, que mostró una tasa de erradicación del 95% (7).

En caso de fracaso del tratamiento de segunda línea, se recomienda el estudio de sensibilidad a los antibióticos, por cultivo o por técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que ha sido validado para la detección de la resistencia a claritromicina (7).

Vacunas

El desarrollo de vacunas basadas en factores de virulencia que confieran protección a largo plazo es la mejor estrategia para el control y/o eliminación de cepas patógenas de *H. pylori*

Diferentes esquemas y formulaciones de inmunización diseñados para evaluar las vacunas basadas en factores de virulencia en modelos animales han dado resultados prometedores. Recientes estudios han tratado de reproducir estos resultados en humanos, con resultados variables.

Los factores de virulencia producidos por *H. pylori* son los responsables de su patogenicidad, encontrándose en relación directa con el desarrollo de enfermedad gastroduodenal (8).

La Ureasa es una proteína que permite a la bacteria evadir las propiedades bactericidas del ácido clorhídrico y que le es necesaria para iniciar el proceso de colonización gástrica. Por estas propiedades y por encontrarse además ampliamente conservada entre las diferentes cepas de *H. pylori*, se ha utilizado como componente antigénico en modelos de vacunas para pruebas en humanos (8).

VacA y CagA son factores de virulencia mencionados anteriormente en este trabajo. VacA es una citotoxina que inhibe la estimulación de los linfocitos T, contribuyendo a la cronificación de la colonización del epitelio gástrico. Su gen se encuentra en todas las cepas de *H. pylori*, pero la toxina activa se ha hallado en un 50% de las bacterias aisladas de personas infectadas y epidemiológicamente se ha asociado a enfermedad gastroduodenal.

CagA se encuentra implicada en el desarrollo de alteraciones en la morfología de las células epiteliales gástricas. Se encuentra presente en el 80% de las cepas de *H. pylori*. Ambas proteínas han sido utilizadas en la formulación de vacunas parenterales, y en personas no portadoras de *H. pylori* han generado anticuerpos y respuesta inmune

celular, sin embargo aún se encuentran pendientes la publicación de estudios que demuestren que dicha inmunización es efectiva contra la colonización por *H. pylori* (8).

La proteína Activadora de Neutrófilos HPNAP se halla presente en todas las cepas de *H. pylori* pero con diferentes niveles de expresión. Posee propiedades quimiotácticas para neutrófilos y monocitos, y con su reclutamiento genera un ambiente favorecedor de la inflamación crónica de la mucosa gástrica. También promueve la respuesta inmune Th1 a través del aumento en la producción de IL12 por monocitos y neutrófilos (9)(10). Estudios con ratones inmunizados con esta proteína mostraron resultados alentadores (generaron inmunidad frente a futuras infecciones de *H. pylori*) que hacen de esta proteína un excelente candidato para el desarrollo de una vacuna contra *H. pylori* (8).

Se han evaluado en ratones vacunas terapéuticas y/o profilácticas de distintos tipos, vacunas de células enteras inactivadas, lisados bacterianos o antígenos recombinantes, las cuales administradas por vía oral o intranasal (mucosas) mostraron altos porcentajes de protección contra la infección así como en la erradicación de la misma. Sin embargo, para que las vacunas en base a antígenos sean efectivas para su administración en mucosas, deben ser administradas en combinación con un adyuvante que estimule el sistema inmune y module la respuesta humoral (8).

Los adyuvantes más usados en experimentación animal han sido la toxina colérica CT y la toxina termolábil de *E.coli* LT, pero su uso en humanos está limitado debido a su alta toxicidad (8). Un nuevo estudio ha desarrollado una toxina termolábil de *E.coli* doble mutante no tóxica, LT(R192G/L211A)(dmLT), que ha demostrado resultados satisfactorios cuando se la administra a nivel de mucosas como adyuvante en vacunas basadas en antígenos. dmLT indujo una fuerte respuesta inmune de células B y T y resultados comparables a los de CT, sugiriendo que dmLT es un atractivo adyuvante para las vacunas mucosas contra *H. pylori* (11).

La inmunización por vía intramuscular también fue ensayada. Se ha experimentado con

vacunas basadas en lisados bacterianos usando hidróxido de aluminio como adyuvante, pero han resultado altamente inmunogénicas, y aún resta seguir investigando sobre ellas (8)(10).

Un resumen de las vacunas ensayadas y sus resultados se anexa en la tabla 1. Como cabe destacar ninguna de estas estrategias consideró la posibilidad de modular la inflamación inducida por el patógeno.

Se han sugerido tratamientos alternativos, en base a plantas, propóleos o probióticos, los cuales muestran ser efectivos actuando sobre los síntomas causados por *H. pylori*, no así en la erradicación, siendo usados en muchos casos como complemento a otros tratamientos. Los probióticos son un grupo de bacterias no patógenas para el ser humano que se caracterizan por disminuir la inflamación cuando son introducidos a un intestino inflamado (12). Existen estudios en que la adición de probióticos a la terapia con antibióticos mejora las tasas de erradicación de *H. pylori*. Otro beneficio que agregan es que disminuyen la aparición de efectos adversos, lo que favorece la adherencia al tratamiento. Aún faltan estudios para determinar la dosis óptima de estos compuestos y la duración de la aplicación (9)(12).

IMMUNIZATION ASSAYS AGAINST HELICOBACTER PYLORI

Antigens	Adjuvant/vector	Delivery route	Sample size	Infection status	Humoral response observed	Cellular response observed	Conclusions	Reference
rUreA ^a	N/D ^b	Oral	12	Asymptomatic infection	N/D	N/D	Urease is tolerated but does not change the course of the infection course.	Kreiss et al. ⁴⁸
rUreAB	LT ^a	Oral	26	Asymptomatic infection	Serum-IgA and IgA-ASC ^c	N/D	Urease with LT is immunogenic and does not produce adverse side effects.	Michetti et al. ⁴⁹
rUreAB	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi (Ty1033)	Oral	8	Without infection	Not detected	N/D	The urease constitutively expressed within Ty1033 lacks immunogenicity. Multiple oral doses may be required to engender detectable mucosal and systemic antibody responses.	DiPetrillo et al. ⁵⁰
rUreAB	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium (LH1160)	Oral	6	Without infection	IgG and IgA	N/D	The single oral dose of <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium expressing <i>H. pylori</i> urease resulted in detectable immune responses to the vectored antigen in a more sensitive assay.	Angelakopoulos et al. ⁵⁶
Inactivated whole-cell	LT _{R192G}	Oral	23 and 18	In D-R ^d with and without infection and in CAT ^e Asymptomatic infection	Serum-IgG and IgA and secretory IgA	Lymphocytes proliferation and IFN- γ production	Produces simulate secretory humoral response against urease in the infected group without eradicating the infection. There is cellular response and IFN- γ production in non- infected volunteers.	Kotloff et al. ⁵²
rUreAB	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi Ty21a (pDB1)	Oral	12	Without infection	Not detected	T-cell response	The recombinant <i>Salmonella</i> vaccine is safe and can induce weak but detectable cellular responses to <i>H. pylori</i> in some volunteers.	Bumann et al. ⁵⁷
rUreAB	LT	Oral	42	Without infection	Serum-IgG and IgA, IgA-ASC and IgG-ASC	Variable lymphocytes production	Confirms safety of urease. LT preserves its adjuvant activity in low doses with minimal adverse effects.	Banerjee et al. ⁵⁰
rUreAB	LT	Rectal	18	Without infection	IgG, IgA and IgA-ASC	Lymphocytes proliferation	Weak response against urease but strong against LT. Established the safety of adjuvant by rectal route.	Souglivizis et al. ⁵¹
Inactivated whole-cell	LT _{R192G}	Oral	5	Without infection	Secretory IgA-ASC	N/D	Evidence of a specific immune response in gastric tissue in volunteers not infected with <i>H. pylori</i> after an oral immunization.	Losonsky et al. ⁵³
CagA, VacA and HP-NAP	Aluminum hydroxide	Paren-teral	57	Without infection	Antibodies	T-lymphocytes and IFN- γ production	The majority of volunteers had humoral and cellular response against three antigens months after immunization.	Ruggiero et al. ⁴⁶
rUreAB	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi Ty21a (pDB1)	Oral	13	Without infection	Not detected	T-lymphocytes and IFN- γ production	This study confirms that oral vaccination with <i>S. typhi</i> Ty21a (pDB1) is capable of inducing cellular immune response to the vectored urease.	Mezger et al. ⁴⁸

^arUreAB: Recombinant urease
^bN/D: Not determined
^cASC: Antibody secretory cells
^dD-R: Doses-response assay
^eLT: Heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli*
^fCAT: Clinical aleatorized trial
^gAE: Adverse events

Tabla 1
 Extraído de Hernández – Hernández y col. (8).

Conclusión

Numerosos estudios sobre la colonización y la adhesión de las bacterias en las células epiteliales gástricas, la diversidad de factores de virulencia, la activación de vías de señalización, la evasión y la subversión del sistema inmune y, más recientemente, sobre los cambios en el perfil de expresión génica de la mucosa y la participación de microRNAs, se han contribuido a una mejor comprensión de la relación huésped-patógeno.

El conocimiento más profundo de la fisiopatología de la infección de *Helicobacter pylori* permitirá el desarrollo de vacunas más efectivas. Debido a la alta prevalencia de este patógeno, consideramos que una aproximación terapéutica óptima sería aquella que contemplara una actividad profiláctica al tiempo que permita erradicar las infecciones establecidas. Para ello sugerimos un tratamiento combinado de antibioterapia con una vacuna que permita modular la inflamación inducida por esta bacteria. Conocer los mecanismos inmunopatológicos subyacentes de la interacción huésped-patógeno ayudará a definir los mecanismos moleculares involucrados en la inflamación de forma de diseñar una vacuna basada en factor de virulencia o motivo antigénico conservado que en conjunto con algún adyuvante o molécula inmunorreguladora promueva una respuesta inmune efectiva específica contra el patógeno.

En este trabajo subrayamos los aspectos más sobresalientes de la respuesta inmune inducida durante la infección por dicho patógeno y su implicancia en el desarrollo del cáncer gástrico. La prevalencia de la infección por *H. pylori* sumado a la gravedad del cáncer gástrico y su difícil diagnóstico amerita el esfuerzo de continuar estudiando esta interacción.

Bibliografía

1. Cadamuro ACT, Rossi AFT, Maniezzo NM, Silva AE. Helicobacter pylori infection: host immune response, implications on gene expression and microRNAs. *World J Gastroenterol.* 2014 Feb 14;20(6):1424–37.
2. Jayavelu ND, Bar NS. Metabolomic studies of human gastric cancer: review. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 7;20(25):8092–101.
3. Farreras P. *Medicina Interna.* 17^o ed. Ciril R, editor. Barcelona, España: Elsevier; 2012.
4. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell.* 2010 Mar 19;140(6):821–32.
5. Rathinam V a K, Vanaja SK, Fitzgerald K a. Regulation of inflammasome signaling. *Nat Immunol.* 2012 Apr;13(4):333–42.
6. Hitzler I, Sayi A, Kohler E, Engler DB, Koch KN, Hardt W-D, et al. Caspase-1 has both proinflammatory and regulatory properties in Helicobacter infections, which are differentially mediated by its substrates IL-1 β and IL-18. *J Immunol.* 2012 Apr 15;188(8):3594–602.
7. Heo J, Jeon SW. Optimal treatment strategy for Helicobacter pylori: era of antibiotic resistance. *World J Gastroenterol.* 2014 May 21;20(19):5654–9.
8. Hernández-Hernández L del C, Lazcano-Ponce EC, López-Vidal Y, Aguilar-Gutiérrez GR. Relevance of Helicobacter pylori virulence factors for vaccine development. *Salud Publica Mex.* 2009;51 Suppl 3:S447–S454.
9. Ayala G, Escobedo-Hinojosa WI, de la Cruz-Herrera CF, Romero I. Exploring alternative treatments for Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol.* 2014;20:1450–69.
10. Jagusztyn-Krynicka EK, Godlewska R. New approaches for Helicobacter vaccine development--difficulties and progress. *Pol J Microbiol.* 2008;57:3–9.
11. Sjökvist Ottsjö L, Flach C-F, Clements J, Holmgren J, Raghavan S. A double mutant heat-labile toxin from Escherichia coli, LT(R192G/L211A), is an effective mucosal adjuvant for vaccination against Helicobacter pylori infection. *Infect Immun.* 2013;81:1532–40.
12. Du Y-Q, Su T, Fan J-G, Lu Y-X, Zheng P, Li X-H, et al. Adjuvant probiotics improve the eradication effect of triple therapy for Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol.* 2012;18:6302–7.

