

Immunización efectiva contra *Helicobacter pylori* en un modelo murino

Jorge Dueñas-Peña^a, David Espinoza-Ramos^a, Diana Caballero-Hernandez^a, Luis J. Pérez-Limón^a, Armando Trejo-Chavez^a, Patricia Tamez-Guerra^a, Ricardo Gómez-Flores^a y Cristina Rodríguez-Padilla^a.

^aLaboratorio de Inmunología y Virología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, S/N San Nicolás de los Garza (U.A.N.L.), México.

inmunoviro@gmail.com

Palabras clave: vacuna, inmunización, *Helicobacter pylori*

Introducción

La infección por *Helicobacter pylori* está asociada con inflamación de la mucosa gástrica (gastritis crónica superficial), úlcera péptica y con el desarrollo de carcinoma gástrico, la tercera causa de muerte por cáncer a nivel mundial. En la actualidad, el tratamiento indicado a pacientes con úlcera gástrica consiste en una serie de antibióticos, con efectos secundarios agresivos que pueden ocasionar graves daños a nivel sistémico. Es por ello que se han explorado otras estrategias para su tratamiento, incluyendo la vacunación para prevenir la infección, utilizando como inmunógenos péptidos obtenidos de la bacteria [1]. El propósito de este proyecto fue evaluar la efectividad preventiva de la inmunización con el péptido MVTLLINNE de *H. pylori* en un modelo murino.

Parte Experimental

Todos los procedimientos de trabajo con los animales siguieron los lineamientos del Comité Interno de Cuidado Animal del Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Se utilizaron 20 ratones BALB/c, hembras de 10-12 semanas de edad al comienzo del experimento. Cada grupo experimental constó de 5 individuos, dos grupos fueron inmunizados; uno de los cuales posteriormente fue expuesto a *H. pylori*, y el otro se mantuvo como control de inmunización. Se incluyó además un grupo control de exposición a *H. pylori* (infectado) y un grupo control sano, no inmunizado y no expuesto a *H. pylori*.

Los ratones recibieron una inmunización por vía intraperitoneal de 100µg del péptido MVTLLINNE de *H. pylori* acompañada de adyuvante Sigma Adjuvant System (SIGMA Aldrich), posteriormente los animales recibieron un refuerzo de 100µg del péptido con adyuvante incompleto de Freund (SIGMA Aldrich). Los ratones se expusieron a *H. pylori* 6 semanas después de la inmunización. La exposición se realizó por vía oral, mediante la administración en bebedero de 10⁹/L UFC a lo largo de 3 semanas, lo que calculamos como 10⁷ UFC/ratón cada tercer día [2]. Se utilizó la cepa ATCC 700824, la cual se ha demostrado que coloniza el estómago de los ratones BALB/c. *H. pylori* pertenece al grupo de riesgo 2, por lo tanto, se siguieron las medidas de bioseguridad apropiadas [3]. Al final de la exposición, semana 14 desde la inmunización inicial, los animales se sacrificaron por punción cardiaca terminal y se colectaron el bazo, timo y el estómago, que se almacenaron a -80°C o en formaldehído 4%, hasta su análisis.

Para evaluar el efecto de la inmunización sobre la respuesta inmune celular se midió la proliferación de linfocitos de timo provenientes de los animales experimentales en respuesta al

mitógeno Concanavalina A o al péptido MVTLLINNE. La proliferación de linfocitos tímicos se determinó mediante la incorporación de MTT a las células en cultivo viables. Para evaluar el efecto de la inmunización sobre la respuesta inmune humoral en los animales experimentales, se determinó la presencia en plasma de las inmunoglobulinas IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 IgM, IgA por medio de citometría de flujo, se utilizó el equipo Accuri C6 (BD, Ann Arbor, MI, USA), y el kit BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Mouse Immunoglobulin Isotyping Kit. Para el análisis histopatológico de la mucosa gástrica, secciones longitudinales del estómago de los animales experimentales se fijaron en formaldehído 4% y posteriormente se incluyeron en parafina. Para el análisis al microscopio se realizaron tinciones H&E y de Warthin-Starry.

Resultados y discusión

De acuerdo con los resultados, la inmunización con el péptido inmunógeno revierte la supresión de la respuesta proliferativa que se observó para los linfocitos provenientes de animales infectados con *H. pylori*. En cuanto a la inmunidad humoral, en los animales infectados que recibieron la inmunización se encontró un perfil de isotipos de inmunoglobulinas asociados a una mayor respuesta bactericida (IgG2b & IgG3).

El análisis histopatológico de la mucosa gástrica de ratones infectados con *H. pylori* reveló gastritis linfoplasmocitaria multifocal discreta con presencia de escasas bacterias y esporas de parásitos unicelulares en epitelio gástrico, alteraciones que no se observaron en el estómago de ratones inmunizados con el péptido MVTLLINNE, si bien se observan bacterias, que coinciden con la descripción de *H. pylori*, probable residuo del protocolo de infección.

Conclusiones

La inmunización con el péptido MVTLLINNE estimula la respuesta inmune celular y humoral, y previene el daño producido por la infección por *Helicobacter pylori* en ratones BALB/c.

Referencias

1. Dunkley ML, Harris SJ, McCoy RJ, Musicka MJ, Evers FM, Beagley LG, Lumley PJ, Beagley KW, Clancy RL. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1999. 24(2); 221-225
2. Boehnke, K.F., Eaton, K.A., Valdivieso, M., Baker, L.H. and Xi, C. Helicobacter. 2015. 20(5), pp.326-333.
3. Villegas, Humberto H. Lara, Nilda Vanesa Ayala Núñez, and Cristina Rodríguez Padilla. Rev Mex Patol Clin. 2007. 54.4: 177-186.