

Quinto Módulo: Infecciones del Tubo Digestivo

Inmunidad y *Helicobacter pylori*

Paul R. Harris

Departamento de
Pediatría, Unidad de
Gastroenterología y
Nutrición Pediátrica,
Facultad de Medicina,
Pontificia Universidad
Católica de Chile,
Santiago, Chile.

Recibido: 10 de marzo
de 2010
Aceptado: 11 de
marzo de 2010

Correspondencia a:

Paul R. Harris,
Pontificia Universidad
Católica de Chile,
Facultad de Medicina,
Departamento de Pe-
diatría, Marcoleta 391,
Santiago, Chile.
Tel: 354-8177,
e-mail: pharris@med.
puc.cl

Immunity and *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori a Gram negative bacterium that colonizes gastric mucosa and that has been associated to different disease such as chronic gastritis, duodenal ulcers and gastric cancer. Although the infection by itself is able to produce damage to the gastric mucosa through the expression and interaction of well-known virulence factors, the immune local response is strongly involved in the pathogenesis of *H. pylori*-associated diseases. The classic dichotomy T helper type 1 vs type 2 response to explain the damage associated to the bacterium, has been reevaluated in a more complex scenario with the recent description of the T regulatory response and the new patterns of T helper response such as Th17. The extremely well balanced equilibrium between virulence and immune inflammatory response is mainly regulated by the intensity of the T regulatory response; its suppression would allow the expression of different T helper responses that account for the final damage and clinical outcomes.

Key words: *Helicobacter pylori*, regulatory T-cells, T-helper response.

Resumen de aspectos prácticos

1. La mayor parte del daño asociado a la infección por *H. pylori* no está provocada por la virulencia, sino por el efecto de la respuesta inmune local sobre la mucosa gástrica.
2. Un gran número de estudios en humanos adultos y modelos murino y de primates sugieren que la respuesta inmune predominante en infección por *H. pylori* es linfocitaria del tipo T helper 1.
3. *H. pylori* en su contacto con la mucosa gástrica induce una respuesta inmune humoral, caracterizada por una elevación transitoria de IgM con posterior elevación de IgG e IgA en suero, que es incapaz de erradicar la infección, pero adquiere un rol como marcador de infección previa para estudios epidemiológicos.
4. Recientemente se ha reportado que la reducción en la inflamación asociada a la infección por *H. pylori* en niños, se correlaciona con una mayor respuesta T regulatoria, y se ha asociado al menor daño mucosal en niños.
5. Más recientemente aún, se ha descrito la presencia de linfocitos productores de IL-17 en la mucosa gástrica de los pacientes infectados con *H. pylori* aunque su relación con la patogenia en respuesta a esta infección no es tan clara.

Respuesta inmune a *H. pylori*

Helicobacter pylori, es una bacteria Gram negativa que coloniza la mucosa gástrica y contribuye al desarrollo de patologías como la gastritis crónica, úlceras duodenales y en menor medida cáncer gástrico. Si bien la infección por *H. pylori* por sí sola, es capaz de producir daño al epitelio gástrico a través de la expresión de numerosos factores de virulencia, la respuesta inmune local se encuentra involucrada en la patogenia de las enfermedades asociadas a dicha infección.

Inicialmente, *H. pylori* en su contacto con la mucosa gástrica induce tanto una respuesta inmune humoral, caracterizada por una elevación transitoria de IgM con posterior elevación de IgG e IgA en suero, como una respuesta inmune celular. En la mucosa gástrica de pacientes infectados por *H. pylori* es posible observar infiltración tanto de polimorfonucleares como células mononucleares, además de incrementos en las concentraciones de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α , responsables de reclutar a células presentadoras de antígenos que participan en esta fase innata de la respuesta inmune, y responsable también de reclutar linfocitos CD4 que tendrán un rol clave en la siguiente fase de inmunidad adaptativa o específica.

De hecho, la respuesta de linfocitos CD4 T helper (Th) ha sido sujeto de estudio por largo tiempo debido a su contribución a la patogenia de las enfermedades

asociadas a *H. pylori*. La infección por esta bacteria genera la expansión de clones específicos que generan perfiles de citoquinas tanto del tipo Th2 como del tipo Th1 siendo este último el de mayor preponderancia. Un gran número de estudios en humanos adultos sugieren un desbalance hacia la respuesta linfocitaria Th1, caracterizada por elevación en la concentración local de IFN- γ e IL-10, entre otros. Linfocitos gástricos obtenidos de pacientes infectados con *H. pylori* se encuentran enriquecidos en linfocitos productores de IFN- γ consistente con el establecimiento de una respuesta Th1. Linfocitos derivados de pacientes con úlcera péptica producto de la infección con *H. pylori* también poseen número elevado de linfocitos productores de IFN- γ . Estudios en modelo murino han demostrado que aunque la respuesta Th1 se encuentra relacionada con el incremento de la gastritis, ratones *knock out* para IFN- γ tienen niveles elevados de colonización por la bacteria. El desarrollo de la gastritis en modelos murinos de *knock out* de ratones inmunodeficientes combinados requiere de la transferencia de efectores CD4+ a ratones infectados, con la concomitante disminución en los niveles de colonización bacteriana en la mucosa gástrica.

Adicionalmente, se ha descrito un nuevo perfil de células T helper efectoras caracterizado por secreción de altos niveles de IL-17, IL-21, e IL-22 en la mucosa gástrica de los pacientes infectados con *H. pylori*. Este nuevo patrón denominado Th17 ha sido involucrado en el componente inflamatorio más intenso de la respuesta inmune, sin embargo, aun su verdadero impacto en relación con la patogenia de respuesta a esta infección no es tan evidente.

Linfocitos T regulatorios

Si bien el sistema inmune es capaz de generar una respuesta inflamatoria robusta que se correlaciona con los niveles de daño tisular, ésta es incapaz de eliminar la bacteria. Un rol protector a nivel del daño generado por inflamación a costa de la persistencia en la infección ha sido descrito para el subgrupo de células T regulatorias (Treg). Las Treg poseen una capacidad supresora de respuestas tanto patológicas como fisiológicas contribuyendo a la mantención de la tolerancia y homeostasis del sistema inmune. Las células Treg naturales son generadas a partir del desarrollo de linfocitos en el timo de manera natural, producto de la selección de clones con una avidéz alta para el complejo péptido-MHC. Se han descrito también poblaciones periféricas de linfocitos con actividad regulatoria denominadas Tr1 y Th3 caracterizadas por la secreción de altos niveles de IL-10 o Factor de crecimiento transformante (TGF)- β , respectivamente.

Estudios clínicos recientes apuntan a que los individuos infectados con *H. pylori* poseen, además,

un mayor número de linfocitos regulatorios con los marcadores CD4+CD25+foxp3+ con respecto a controles sanos. La expresión de citoquinas de carácter antiinflamatorio como TGF- β y de IL-10 también se encuentra aumentada en los pacientes infectados y se correlacionan inversamente con la intensidad de la colonización y la magnitud del daño. Una asociación directa entre una disminución de la respuesta Treg y un aumento de las respuestas Th1 y Th2 en pacientes con úlcera gastroduodenal ha sido demostrada dando cuenta de la relevancia de la respuesta Treg en el balance entre persistencia de la infección y desarrollo de patologías producto de desbalances en la respuesta inmune ante el patógeno.

La capacidad inmunomoduladora de las células Treg naturales, caracterizadas por la alta expresión de la cadena alfa del receptor de IL-2, CD25, ha sido demostrada en diferentes modelos. La transferencia de suspensiones celulares de bazo depletadas de CD4+CD25+ a ratones BALB/c atímicos provoca el desarrollo de enfermedades autoinmunes, fenómeno completamente abatido por la cotransferencia de células CD4+CD25+. En infecciones crónicas como la desarrollada por el patógeno *Leishmania amazonensis* caracterizados por la generación de una respuesta Th1 con alta producción de IFN- γ la ablación de células CD4+CD25+ promueve la generación de una respuesta inmune patogénica caracterizada por un alto nivel de daño tisular.

Si bien, la presencia del marcador CD25 ha sido asociado a células Treg, células CD4 convencionales son capaces de expresar este marcador en superficie una vez activadas por su antígeno, por lo que la búsqueda de marcadores propios de las células Treg fue de vital importancia en el avance del campo. Los primeros antecedentes vinieron de la mano del desarrollo en el entendimiento de las bases moleculares de una enfermedad auto inmune ligada al cromosoma X denominada IPEX, caracterizada por la presencia de una desregulación inmune, poliendocrinopatía y enteropatía en donde mutaciones en un factor de transcripción de la familia *forkhead* (Foxp3) aparecían como responsables del fenotipo tanto en humanos como en ratones. Lesiones autoinmunes asociadas a las mutaciones de este factor de transcripción podían ser revertidas en el modelo murino de IPEX mediante la reexpresión de Foxp3.

La relación con tolerancia inducida por células CD4+ CD25+ provino de la observación de niveles altos de Foxp3 en células Treg CD25+ tanto periféricas como provenientes del timo. Esta expresión no era observada en las células T CD4+ convencionales ni aun después de la estimulación antígeno específica. Adicionalmente la expresión de Foxp3 de manera forzada en linfocitos T CD4+ vírgenes generaba fenotipos supresores en dichas células con niveles aumentados

Quinto Módulo: Infecciones del Tubo Digestivo

de expresión de moléculas marcadoras como CTLA-4 y GITR. Por otro lado, la delección condicional de este factor de transcripción resulta en una pérdida de la capacidad supresora, incremento en la habilidad para producir IL-2 y citoquinas proinflamatorias.

Los mecanismos mediante los cuales las Treg son capaces de suprimir la actividad de linfocitos convencionales son dependiente de contacto célula a célula. La capacidad supresora de las Treg es inhibida *in vitro* cuando las reguladoras son separadas de las células efectoras por una membrana semipermeable. Esta supresión depende de la inhibición de la expresión de IL-2, de citoquinas inmunomoduladoras como IL-10 y TGF- β , de la interacción con células presentadoras de antígeno y de la expresión en membrana de moléculas accesorias como CTLA-4 y GITR.

Implicancia de la respuesta Treg en la infección por *H. pylori*

Estudios recientes han demostrado el rol de la respuesta Treg en el daño provocado por la infección por *H. pylori*. En el modelo murino la reconstitución de ratones atímicos con efectores CD4⁺ depletados de células CD25⁺ genera una reducción significativa de la colonización bacteriana con niveles de gastritis elevados con respecto a los reconstituidos con el *pool* completo de células CD4⁺. Otros estudios dan cuenta del mismo fenómeno, niveles de colonización reducidos con mayor aumento del infiltrado inflamatorio en ratones repletados de células Foxp3⁺ mediante anticuerpos monoclonales.

En humanos, existen observaciones recientes que apuntan a que los individuos infectados con *H. pylori* poseen un mayor número de linfocitos CD4⁺CD25⁺ que expresan tanto Foxp3 como CTLA-4 en la mucosa gástrica y duodenal con respecto a controles sanos y que poseen una memoria CD4⁺ para antígenos de *H. pylori* reducida debido a la presencia de Treg. La expresión de TGF- β y de IL-10 también se encuentra aumentada en los pacientes infectados y se correlacionan con positivamente con la intensidad de la colonización y la magnitud del daño. Atherthon y cols, ha demostrado recientemente una asociación

directa entre una disminución de la respuesta Treg y un aumento de las respuestas Th1 y Th2 en pacientes con úlcera gastroduodenal. Nuestro grupo ha demostrado que existen diferencias sustanciales en los niveles de respuesta Treg inducida por la infección por *H. pylori* diferentes grupos etarios. Los niveles de gastritis observados en niños infectados con *H. pylori* (menores de 12 años) son significativamente reducidos con respecto a los adultos. Esta reducción en la inflamación se correlaciona con mayores niveles de citoquinas regulatorias como IL-10 y TGF- β tanto a nivel de ARN mensajero como de proteína y a un aumento de células CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ nivel de la mucosa gástrica en niños infectados con respecto a los adultos dando cuenta de la relevancia de la respuesta Treg en el balance entre persistencia de la infección y desarrollo de patologías producto de desbalances en la respuesta inmune ante el patógeno.

Resumen

Helicobacter pylori, es una bacteria Gram negativa que coloniza la mucosa gástrica y contribuye al desarrollo de patologías como la gastritis crónica, úlceras duodenales y en menor medida cáncer gástrico. Si bien la infección por *H. pylori* por sí sola es capaz de producir daño al epitelio gástrico a través de la expresión de numerosos factores de virulencia, es la respuesta inmune local la mayor responsable de la patogenia de las enfermedades asociadas a dicha infección. La clásica dicotomía en la respuesta T helper tipo 1 vs tipo 2 para explicar el daño asociado a la bacteria, ha dado paso a un escenario más complejo con la reciente descripción de las células T regulatorias y la existencia de nuevos perfiles de respuesta T helper como Th 17. El delicado equilibrio entre virulencia y respuesta inflamatoria inmune es principalmente regulado por la intensidad de la respuesta T regulatoria, cuya supresión permite la expresión de una respuesta efectora potencialmente responsable del daño final.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, células T regulatorias, respuesta T helper.

Referencias

- 1.- Smythies LE, Waites KB, Lindsey RJ, Harris PR, et al. *Helicobacter pylori*-induced mucosal inflammation is Th1 mediated and exacerbated in IL-4, but not IFN- γ , gene-deficient mice. *J Immunol* 2000; 165: 1022-9.
- 2.- Bennett C, Christie J, Ramsdell F, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001; 27: 20-1.
- 3.- Fontenot JD, Rasmussen J, Williams L, et al. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor Foxp3. *Immunity* 2005; 22: 329-41.
- 4.- Yagi H, Nomura T, Nakamura K, et al. Crucial role of FOXP3 in the development and function of human CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. *Int Immunol* 2004; 16: 1643-56.
- 5.- Williams L, Rudensky A. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3. *Nat Immunol* 2007; 8: 277-84.

- 6.- Annacker O, Pimenta-Araujo R, Burlen-Defranoux O, et al. CD25+ CD4+ T cells regulate the expansion of peripheral CD4 T cells through the production of IL-10. *J Immunol* 2001; 166: 3008-18.
- 7.- Nakamura K, Kitani A, Fuss I, et al. TGF- β 1 plays an important role in the mechanism of CD4+CD25+ regulatory T cell activity in both humans and mice. *J Immunol* 2004; 172: 834-42.
- 8.- Kryczek I. Cutting edge: induction of B7-H4 on APCs through IL-10: novel suppressive mode for regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 177: 40-4.
- 9.- Raghavan S, Fredriksson M, Svennerholm AM, et al. Absence of CD4+CD25+ regulatory cells is associated with a loss of regulation leading to increased pathology in *Helicobacter pylori*-infected mice. *Clin Exp Immunol* 2003; 133: 393-400.
- 10.- Rad R, Brenner L, Bauer S, et al. CD25+/Foxp3+ T cells regulate gastric inflammation and *Helicobacter pylori* colonization in vivo. *Gastroenterol* 2006; 131: 525-37.
- 11.- Lundgren A, Suri-Payer E, Enarsson K, et al. *Helicobacter pylori*-specific CD4+CD25high regulatory T cells suppress memory T-cell responses to *H. pylori* in infected individuals. *Infect Immun* 2003; 71: 1755-62.
- 12.- Lundgren A, Strömberg E, Sjöling A, et al. Mucosal FOXP3-expressing CD4+CD25high regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Infect Immun* 2005; 73: 523-3.
- 13.- Kandulski A, Wex T, Kuester D, et al. Naturally occurring regulatory T cells (CD4+, CD25high, FOXP3+) in the antrum and cardia are associated with higher *H. pylori* colonization and increased gene expression of TGF- β 1. *Helicobacter* 2008; 13: 295-303.
- 14.- Harris PR, Wright SW, Serrano C, et al. *Helicobacter pylori* gastritis in children is associated with a regulatory T-cell response. *Gastroenterol* 2008; 134: 491-9.
- 15.- Robinson K, Kenefeck R, Pidgeon E, et al. *Helicobacter pylori*-induced peptic ulcer disease is associated with inadequate regulatory T-cell responses. *Gut* 2008; 57: 1375-85.