

M. Calvino Fernández<sup>1,2</sup>, S. Benito Martínez<sup>1</sup>, J. P. Gisbert<sup>2,3</sup>, T. Parra Cid<sup>1,2</sup>

1.-Unidad de Investigación. Hospital Universitario de Guadalajara. 2.-CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

3.-Hospital Universitario de la Princesa e IP, Madrid.

## INTRODUCCIÓN

La IL-8 media la respuesta inflamatoria. Su efecto más reconocido es el de péptido quimiotáctico de neutrófilos. Es secretada, entre otras células, por las epiteliales de la mucosa gástrica, secreción que se incrementa en la infección por *H. pylori* (HP).

La IL-8 debe unirse a receptores de alta afinidad (CXCR1 y CXCR2, receptores de IL-8RA e IL-8RB, respectivamente) para ejercer sus funciones. CXCRs se han identificado en diferentes tipos celulares en los que contribuyen al reordenamiento de su citoesqueleto, a la formación de fibras de estrés y de hendiduras entre células vecinas, y a la permeabilización de membranas.

## OBJETIVO

Papel de los receptores de la IL-8 (CXCR1 y CXCR2) en la infección por HP.

## MATERIALES Y MÉTODOS



Filtro de Nitrocelulosa (diámetro de poro: 5µm)

150µL de sobrenadante

150.000 PMNs



Cámara de Migración Neuroprobe

Se incubaron células epiteliales gástricas (AGS) con 2 cepas genéticamente diferentes respecto a *cagA* (10<sup>8</sup>UFC/mL, 24h). El control fue un cultivo de AGS sin bacterias. En una cámara de migración (Neuroprobe) dispensamos: en la parte inferior, 150µL de sobrenadante de los cultivos, y en la superior, 150.000PMN obtenidos de sangre periférica de sujetos sin infección. Después de 2h calculamos el índice de quimiotaxis (IQ): PMN migrados hacia los sobrenadantes en cocultivos/ PMN no migrados. Al microscopio de contraste de fase visualizamos el fenotipo celular. Las AGS y los PMN, antes y después de la migración, se marcaron con anticuerpos anti-CXCR1 y anti-CXCR2 y se analizaron por Citometría de Flujo.

## RESULTADOS

El IQ de PMN reclutados fue 9-10 veces (Fig.1) y la expresión de CXCR1 y CXCR2 4.1-4.3 veces más elevada que en los PMN que no migraron (Fig.2), sin diferencias significativas entre cepas, pero sí respecto de los controles. Los fenotipos de las AGS se corresponden con los denominados SFA (“asociado a fibras de estrés”) y “hummingbird”, en los cocultivos con cepas *cagA*(-) y (+) respectivamente, y en ambos se observa: pérdida de adhesión entre células vecinas, filopodia, alargamiento y crecimiento celular difuso (Fig.3). Estas características coinciden con las descritas en otros tipos celulares que sobreexpresan CXCRs.

En las AGS, la expresión de CXCR1 y de CXCR2 está incrementada 50-60% respecto a células no infectadas, independientemente del genotipo *cagA* bacteriano (Fig.4).

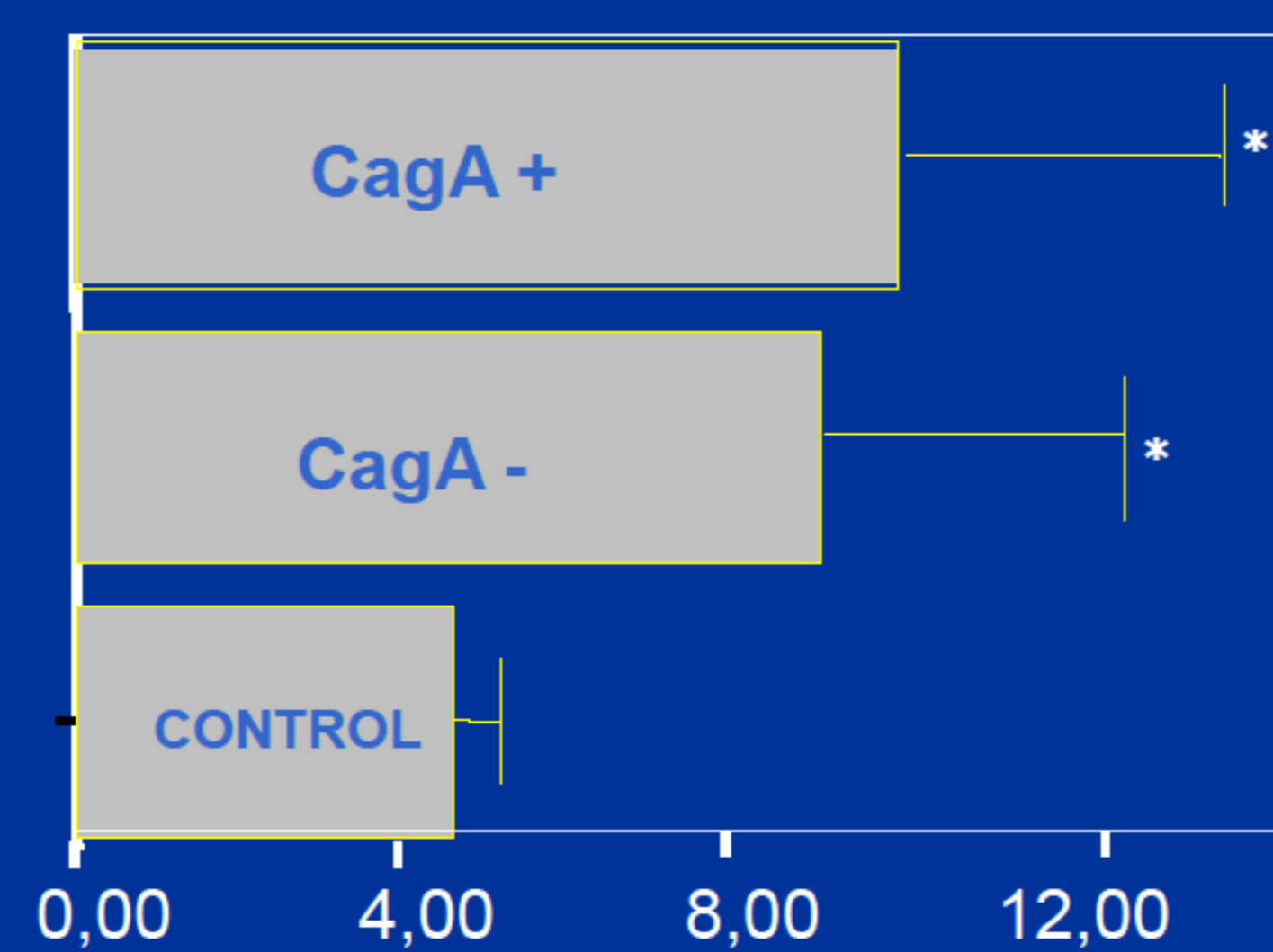


Figura 1. Índice de quimiotaxis de PMN de una cepa *cagA*+ y otra *cagA*- respecto del control. \*p≤ 0.05

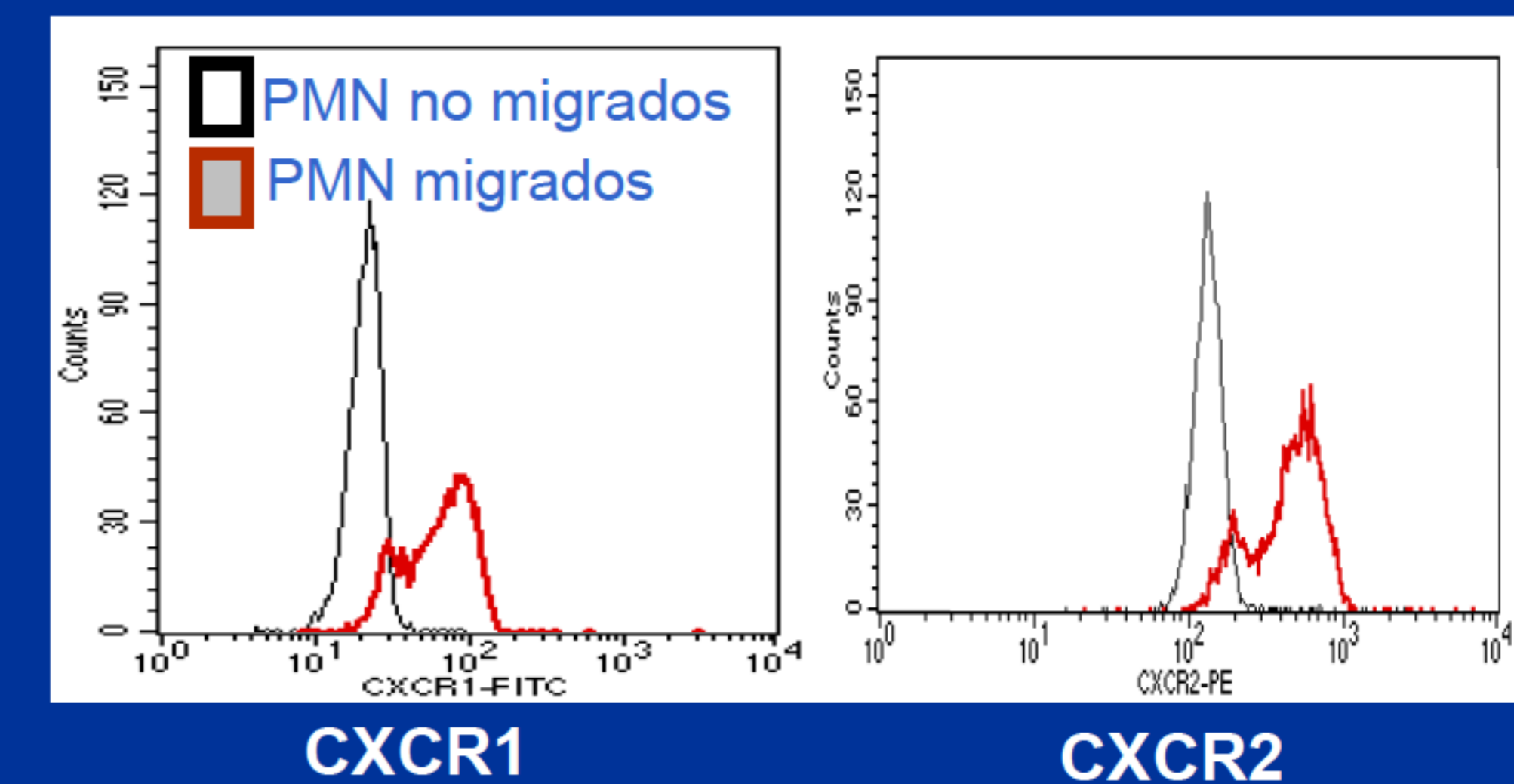


Figura 2. Incremento en la expresión de CXCR1 y CXCR2 en PMN.



Figura 3. Fenotipos “hummingbird” y SFA en cultivos de HP *cagA*- y *cagA*+

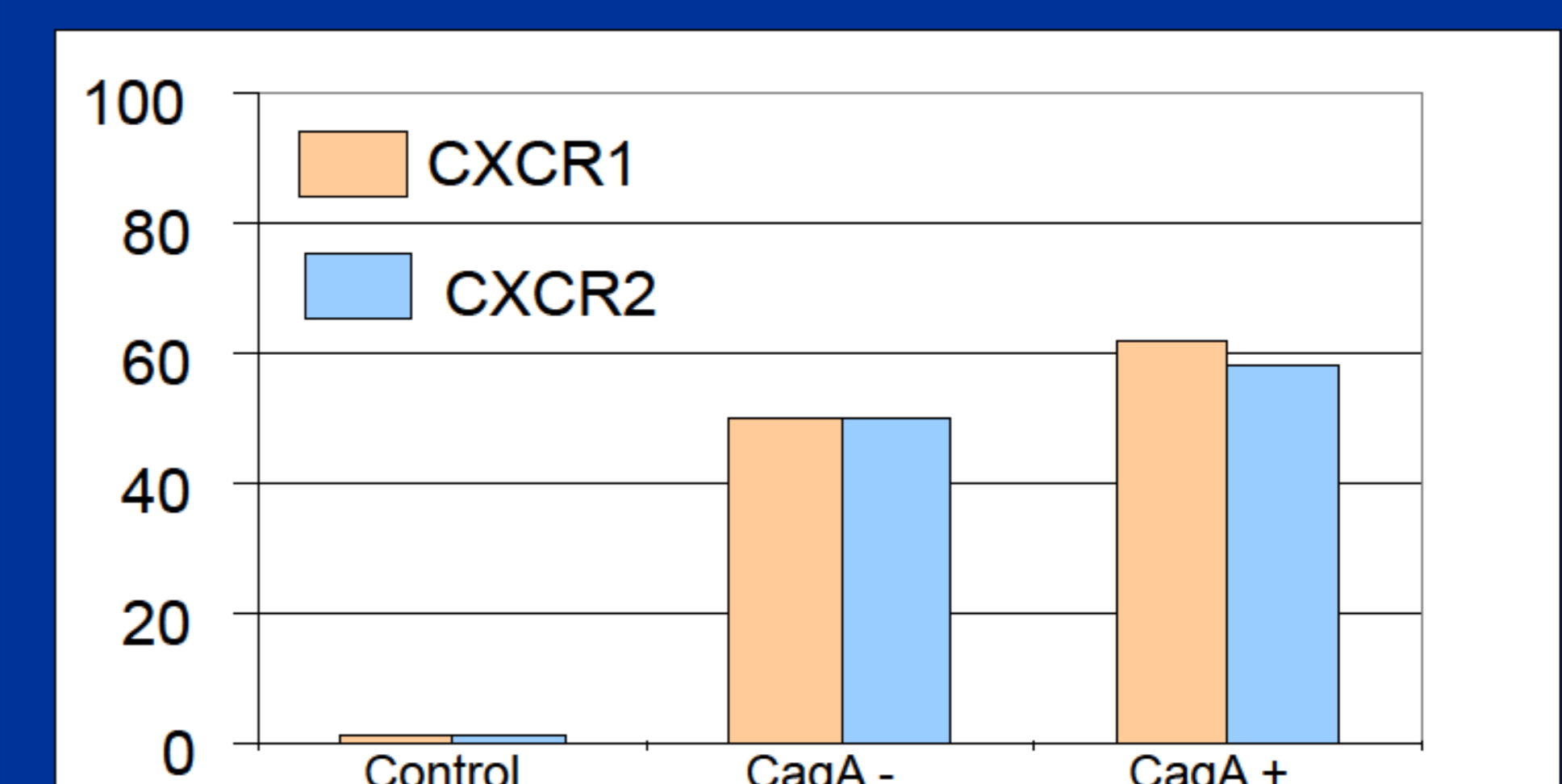


Figura 4. Aumento en la expresión de CXCR1 y CXCR2 en células epiteliales gástricas infectadas con HP *cagA*- y HP *cagA*+

## CONCLUSIONES

HP modula la expresión de CXCRs en neutrófilos facilitando su reclutamiento, flujo y activación en mucosa gástrica, donde contribuyen a la actividad de la gastritis y al daño inflamatorio. La bacteria causa sobreexpresión de estos receptores también en células epiteliales gástricas, y por ser éstas las principales productoras de IL-8 podrían estar estimulando de manera continua y autocrina a los mismos, contribuyendo a la activación y destrucción del epitelio (como muestran los fenotipos postinfección). Sugerimos que anticuerpos monoclonales anti-CXCR podrían ser de utilidad terapéutica en la infección por HP.