

# Modelos animales

## para el estudio de la infección por el género *Helicobacter*

*Animal models for the study of infection of the genus Helicobacter*

A. Morales Briceño<sup>1</sup>, A. Méndez Sánchez<sup>1</sup>, M. Morales Briceño<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales Ctra. de Madrid km 396, 14071, Córdoba Universidad de Córdoba. España. <sup>2</sup>Ejercicio Privado Laboratorio de Microbiología.

Recibido: 20/10/2013

Aceptado: 21/11/2013

### Introducción

*Helicobacter pylori* y organismos asociados a *Helicobacter* (HLO: *Helicobacter like organisms*), son microorganismos espiralados-curvos o coccoides, Gram negativos, habitantes de las glándulas gástricas, células parietales y del moco estomacal. Estas bacterias están asociadas a enfermedad inflamatoria y ulceración de la mucosa gástrica (gastritis aguda, gastritis crónica, ulceración gástrica y gastropatías). El número de especies del género *Helicobacter* rápidamente se ha expandido desde la pasada década (Fox, 2002). El género ahora incluye por lo menos 24 nombres formales de especies, así como existen numerosas especies de *Helicobacter* esperando por su identificación formal (Fox, 2002). Ellos han sido clasificados en base a su secuencia 16rRNA, DNA hibridación y su morfología en microscopía electrónica en especies de *Helicobacter* Gástricas: *Helicobacter mustelae*, *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. heilmannii*, *H. acinonychis*, *H. nemestrinae*, *H. suncus*, *Candidatus Helicobacter bovis*, *Candidatus Helicobacter suis*, *Gastrospirillum suis* y especies de *Helicobacter* Enterohépatas: *Helicobacter hepaticus*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. pametensis*, *H. pullorum*, *H. canadensis*, *cholecystus*, *H. mesocricetorum*, *H. rodentium*, *H. typhlonicus*, *H. muridarum*, *H. flexispira*, *H. bilis*, *H. trogonum*. La patogénesis de la virulencia de *H. pylori*-HLO se sustenta en la presencia de dos subunidades compuestas de Ureasa (564 kDa) y un porcentaje total de proteína celular (2%) que se asocia con fallas en el efecto buffer del moco, acúmulo excesivo de Amoníaco y fallas del metabolismo de éste, por las células gástricas. La presencia de flagelos en el *Helicobacter* indican que la motilidad juega un papel fundamental en la colonización de esta bacteria en las células gástricas (Solnick and Schauer, 2001). La adherencia de *Helicobacter* a la mucosa gástrica, previa a la colonización intracelular gástrica se conoce que ocurre pero se desconocen los mecanismos envueltos. Sin embargo, la bacteria posee aglutininas que pueden ser inhibidas por proteasas, calor y tripsina. La presencia de Lipopolisacáridos (LPS) capsulares ha sido observado en *H. pylori*. Aunque este aspecto

no ha sido definido en la virulencia del género *Helicobacter*, se acepta el rol que juega el LPS en combinación con los antígenos de las células del huésped para evadir y regular la respuesta inmune contra *Helicobacter*, favoreciendo así la colonización e infección crónica de esta importante bacteria (Solnik and Schauer, 2001). El uso de los modelos animales para el estudio de la *Helicobacteriosis* ha sido amplio a nivel mundial, lo cual ha permitido grandes avances en cuanto al conocimiento de la epidemiología, infección y patogenia de *Helicobacter* especies en la enfermedad gástrica humana.

### Modelos Animales para el estudio de la infección por el género *Helicobacter*

En la literatura han sido descritos modelos animales experimentales para *H. pylori* y otras *Helicobacter* (HLO) específicos por especies. Los hurones o ferrets (*Mustela furo*), han sido ampliamente utilizados para la infección por *H. mustelae* con 99% de colonización exitosa a su vez se ha logrado colonización de *H. pylori* con 50% de colonización proveniente de aislados humanos (Dubois, 1998). En ratones y ratas de laboratorio (*Mus musculus*) son los de mayor uso y aplicación principalmente en la terapéutica. Los ratones y ratas son colonizados por *H. muridarum*, *H. mustelae*, *H. felis*, *H. heilmannii*, e inclusive *H. pylori* con 100% de colonización. Primates no humanos: son de gran importancia por las características genéticas e inmunológicas con los humanos. Los lémures (*Haplemur aureus*) han sido ampliamente utilizados, seguidos por el mono rhesus (*Macaca mulatta*), el mono japonés (*Macaca fuscata*) e inclusive chimpancés (*Pan troglodytes*), principalmente con *H. pylori* y en la antibióticoterapia (Dubois, 1998). El modelo animal del canino y felino también ha sido utilizado para las infecciones por *H. pylori*, *H. felis* y *H. heilmannii* con buenos resultados 99% de colonización en infecciones experimentales (Dubois, 1998). El cerdo (*Sus scrofa*) inclusive cerdos gnotobioticos han sido usados ampliamente ya se han logrado 100% de colonización en inoculaciones vía oral, de *H. pylori* y *H. heilmannii* (Dubois, 1998, Krakowka

and Ellis 2006). También se ha ampliado su uso en nuevas terapias para el tratamiento de *H. pylori*. Ha sido planteado el modelo del cerdo para establecer la interacción de bacterias del género *Helicobacter* con agentes virales como: coronavirus, circovirus, pestivirus, entre otros, en el desarrollo de úlceras gástricas, es decir la interacción virus-bacterias en la ulcerogénesis gástricas. A la vez el modelo experimental del cerdo, permite estudiar la carcinogénesis gástrica asociada a la infección por *H. pylori* y HLO. El desarrollo de tumores asociados a la infección crónica por *H. pylori* ha sido reportada asociada a una hiperplasia del tejido linfóide asociado a mucosa (MALT), reseñados pólipos gástricos, linfomas y

adenocarcinomas gástricos. Varios estudios han asociado la inflamación y citocinas a la carcinogénesis (Kountouras y col. 2007). El aumento de la producción de IL-1b inducida por *H. pylori* e hipoclorhidria se asocia con un mayor riesgo de cáncer gástrico. Además, el TNF- $\alpha$  xenografted promueve la metástasis de las células del cáncer gástrico humano. Ha sido propuesta la activación de las factor kB nuclear (NF-kB), una característica distintiva de respuestas inflamatorias que con frecuencia se detectan en los tumores (Nardone y col. 2007). En la siguiente tabla se describe detalladamente cada modelo experimental animal establecido en mayor o en menor escala para los estudios de *Helicobacter* sp.

**Tabla 1.- Especie animal, línea o cepa, Modo de obtención, aplicación**

| Especie  | Línea/Cepa  | Obtención   | Aplicación   |
|--|---|---|--|
| Perro ( <i>Canis familiaris</i> )  | Beagle  | Cría Convencional (SpA)<br>Espontaneo   | Infecciones crónicas<br>Inmunidad/Vacunas  |
| Babuino ( <i>Papio sp.</i> )   | Babuino   | Cría Convencional<br>Espontaneo   | Infecciones crónicas<br>Inmunidad/Vacunas  |
| Cerdo ( <i>Sus scrofa</i> )  | Gnotobiotic pig<br>Gnotobioticos<br>(Recién nacidos)  | Cesaria/Aséptico/Aislador<br>Libre Agentes Patógenos  | Infección Experimental Virulencia<br>Inmunidad/Vacunas<br>Carcinogénesis<br>Linfoma/MALT |
| Cobayos<br>( <i>Cavia porcellus</i> )                                    | Dunkin-Hartley  | Charles River en 1968 de Medical Research<br>Council, Millhill, Inglaterra.<br>Línea Comercial  | Inmunidad/Vacunas<br>Carcinogénesis química  |
| Gato ( <i>Felis catus</i> )  | Laboratorio Convencional  | Cría Convencional Espontaneo  | Inmunidad/Vacunas<br>Gastritis Linfocelular  |
| Gerbil Mongolia<br>( <i>Meriones unguiculatus</i> )                      | Laboratorio Convencional  | Cría Convencional Espontaneo  | Carcinogénesis química   |
| Hamster ( <i>Mesocricetus auratus</i> )<br>( <i>Crisetulus griseus</i> ) | Laboratorio Convencional  | Cría Convencional Espontaneo  | Inmunidad y vacunas<br>Carcinogénesis química  |
| Hurones<br>( <i>Mustela furo</i> )                                       | Laboratorio Convencional  | Cría Convencional Espontaneo  | Infección natural<br>Gastritis Linfocitaria Antral<br>MALT<br>Linfoma gástrico           |
| Lémures ( <i>Hapalemur aureus</i> )                                      | Laboratorio Convencional  | Cría Convencional Espontaneo  | Inmunidad/Vacunas  |
| Mono Rhesus ( <i>Macaca mulata</i> )                                     | Laboratorio Convencional  | Cría Convencional Espontaneo  | Inmunidad/Vacunas  |
| Mono Japones ( <i>Macaca fuscata</i> )                                   | Laboratorio Convencional  | Cría Convencional Espontaneo  | Inmunidad/Vacunas  |
| Ratones<br>( <i>Mus musculus</i> )                                       | Inmunocompetentes (SCID)<br>(C57BL/6)   | C.B17 Homocigotos mutación (SCID)<br>Cepa Consanguínea 1921 por CC pequeño en el<br>Instituto Bussey  | Infección Experimental Virulencia<br>Inmunidad<br>Vacunas<br>Carcinogénesis              |
|  | BALB/c Mouse House  | Nueva York 1920   |  |
|  | C3H/HeJ   | Mutación espontanea Strong 1920 (Cepa Bagg<br>Albino Hembra/DBA macho)  |  |
|  | Deficientes IgA   | Mutaciones Dirigidas  |  |
|  | Transgénicos<br>Knock-out   | Mutaciones Dirigidas<br>rocF, p53, OLFM4 ,MIF, TLR2,TLR4  |  |
| Rata<br>( <i>Rattus norvegicus</i> )                                     | Gnotobiotic Rats<br>Gnotobioticos<br>(Recién nacidos)<br>Albinas Wistar<br><br>Sprague Dawley | Cesaria/Aséptico/Aislador<br>Libre Agentes Patógenos Espontaneo<br>Espontaneo. 1906 Wistar Institute Filadelfia.<br><br>Espontanea. R. Dawley, Sprague-Dawley<br>Company, Wisconsin, 1925.<br>A hybrid hooded male was mated to a white<br>female subsequently to his white female Offspring<br>for seven successive generations. | Infección Experimental Virulencia<br>Inmunidad<br>Vacunas<br>Carcinogénesis              |
| Chimpancé ( <i>Pan troglodytes</i> )                                     | Laboratorio Convencional  | Espontaneo  | Infección Experimental Virulencia<br>Inmunidad   |

Como se resume en la tabla 1 múltiples animales de experimentación se han utilizado en el estudio del género *Helicobacter*, sin embargo no hay un modelo animal idóneo para el estudio de infecciones, carcinogénesis gástrica por *Helicobacter* sp. Cada modelo tiene sus fortalezas y debilidades y la elección de un modelo animal depende de los objetivos experimentales. Sin embargo un área con mayor desarrollo en los últimos años es el uso de animales transgénicos y Knock Out como modelo animal experimental para el estudio del género *Helicobacter* y sus especies específicas. A nivel mundial es posible derivar estudios del *Helicobacter* en muchas especies animales, sin embargo gran cantidad de transgénicos y ratones knock out, se están desarrollando por su versatilidad y múltiples ventajas. Los pequeños carnívoros como modelos experimentales permiten estudios a través gastroscopias, biopsias repetidas que están limitados en modelos animales de roedores (ratones y ratas). El costo económico y las condiciones de manejo se pueden considerar como una desventaja. Los primates no humanos por sus características compatibles con el humano se consideran biológicamente y patológicamente como el modelo experimental ideal, pero económicamente se limita su estudio. Las ventajas del ratón sobre otros animales experimentales incluyen la capacidad para manipular la información genética nueva, dentro de la célula y de transmitirla a la línea germinal, tiene un ciclo reproductivo muy corto y los tamaños de las camadas son muy grandes. Así como el ratón es un animal pequeño, manejable, bien caracterizado y muy usado en el laboratorio. Es una especie que cuenta con muchas cepas consanguíneas diferentes. Además, el conocimiento de la biología del ratón es grande. Para el ratón existe un número abundante de anticuerpos y sondas de cDNA, se han construido bibliotecas genómicas y de cDNA para cada cepa de ratón. Los ratones son relativamente baratos en comparación con otros animales experimentales su mantenimiento aún en condiciones de alta seguridad es relativamente sencillo. Por otro lado, en la técnica de células Stem embrionarias, necesaria para crear ratones knock-out, las únicas células disponibles, hasta muy recientemente, han sido las células Stem embrionarias de ratón. El ratón, también, con la técnica de inyección usada en la gran mayoría de casos para hacer animales transgénicos, es muy conveniente, debido a la disponibilidad de números relativamente grandes de huevos fertilizados, y también a su tamaño y resistencia. Es muy importante hacer notar que la conservación evolutiva nos ha mostrado que tanto los ratones como otros mamíferos son embarazosamente similares a los humanos.

1. Contreras M, García-Amado MA, Morales A, Bermúdez V, Devera M, Gueneau P. Detection of the Genus *Helicobacter* in Racehorses gastric mucosa. *Helicobacter* 2006; 4:1 411.
2. Contreras M, Morales A, García-Amado MA, Bermúdez V, Devera M, Gueneau P. Detection of the *Helicobacter*-like DNA in the gastric mucosa in Thoroughbred horses. *Letters in Applied Microbiology* 2007; 45 5 553-557.
3. Dubois A. Animal Models of *Helicobacter* Infection. *Laboratory Animals Science* December 1998; 48: 6 596-603.
4. Fox J. The non-H pylori *Helicobacters*: their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. *Gut* 2002; 50:273-283.
5. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D, Katsinelos P. New aspects of *Helicobacter pylori* infection involvement in gastric oncogenesis. *J Surg res* 2007 July; 27; 178.
6. Krakowka S. and Ellis J. Reproduction of severe Gastroesophageal Ulcers (GEU) in Gnotobiotic Swine Infected with Porcine *Helicobacter pylori*-like Bacteria. *Vet Pathol* 2006; 43:956-962.
7. Morales A, Bermúdez V, Devera M, Contreras M, García-Amado MA, Gueneau P. A multidisciplinary study of gastric ulcers in Thoroughbreds of Venezuela. *Vet Pathol* 2006; 43:5, 822.
8. Nardone G, Compare D, De Colibus P, De Nucci G, Rocco A. *Helicobacter pylori* and epigenetic mechanisms underlying gastric carcinogenesis. *Dig Dis*. 2007; 25 3:225-9.
9. Nedrud, J. G. (1999), Animal models for gastric *Helicobacter* immunology and vaccine studies. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 24: 243–250.
10. Polanco R, Bermúdez V, Vivas I, Saldivia C, Saldivia V, Arevalo L. Lesiones gástricas asociadas a la presencia de bacterias del Género *Helicobacter* en caninos. *Revista Científica FCV-LUZ* 2006; 6:16, 585-592.
11. Solnick J and Schauer D. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diaseases. *Clinical Microbiology Reviews*, Jan, 2001; 1:14, 59-89.