

Instituto Nacional de Endocrinología

## **HELICOBACTER PYLORI Y ANTICUERPOS ANTIISLOTES PANCREÁTICOS EN LA DIABETES MELLITUS**

Lic. Eduardo Cabrera Rode,<sup>1</sup> Lic. Oscar Díaz Horta,<sup>2</sup> Lic. Gisela Molina Matos,<sup>2</sup> Dr. Claudio Tiberti,<sup>3</sup> Dra. Marinela Fuentes,<sup>4</sup> Dr. Pedro A. Perich Amador,<sup>5</sup> Dr. Manel Puig-Domingo,<sup>6</sup> Dr. Elio Vecci,<sup>7</sup> Dr. Manuel Paniagua,<sup>8</sup> Dr. Felipe Piñol,<sup>9</sup> Dra. María del Pilar Escobar,<sup>10</sup> y Dr. Umberto Di Mario<sup>11</sup>

### **RESUMEN**

Se estudiaron 66 sujetos ICA +: 21 diabéticos tipo 1, 24 diabéticos clasificados inicialmente como de tipo 2 y 21 familiares de primer grado de diabéticos tipo 1, se compararon con 101 individuos ICA -: 20 diabéticos tipo 2, 20 FPG, 21 niños y 40 adultos controles no diabéticos para analizar si la respuesta inmunológica a *H. pylori* está asociada con anticuerpos antiislotos pancreáticos (ICA). Los ICA se determinaron por el método de inmunofluorescencia indirecta con incubación prolongada y los niveles de anticuerpos (IgG) contra *H. pylori* (HP), por un ELISA utilizando un kit comercial. Se observó frecuencia de anticuerpos (IgG) contra *H. pylori* del 38,0 % (25/66) en los sujetos ICA + y del 39,6 % (40/101) en los ICA-. No se halló correlación entre la presencia de anticuerpos (IgG) contra *H. pylori* y los ICA en los grupos estudiados. No hubo diferencias en relación con la presencia de anticuerpos

- 
- <sup>1</sup> Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar. Jefe del Departamento de Inmunología. Instituto Nacional de Endocrinología.
  - <sup>2</sup> Licenciado en Bioquímica. Aspirante a Investigador. Instituto Nacional de Endocrinología.
  - <sup>3</sup> Licenciado en Biología. Clínica Médica II. Universidad de Roma "La Sapienza". Italia.
  - <sup>4</sup> Residente de Endocrinología. Instituto Nacional de Endocrinología.
  - <sup>5</sup> Especialista de II Grado en Endocrinología. Investigador Agregado. Instituto Nacional de Endocrinología.
  - <sup>6</sup> Profesor Asociado de Endocrinología. Coordinador de Investigaciones. Hospital de la Santa Cruz y San Pablo. Universidad Autónoma de Barcelona. España.
  - <sup>7</sup> Jefe de Laboratorio. Clínica Médica II. Universidad de Roma "La Sapienza" Italia.
  - <sup>8</sup> Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Gastroenterología. Profesor Titular. Instituto Nacional de Gastroenterología.
  - <sup>9</sup> Especialista de II Grado en Endocrinología. Investigador Agregado. Instituto Nacional de Gastroenterología.
  - <sup>10</sup> Especialista de I Grado en Gastroenterología. Instituto Nacional de Gastroenterología.
  - <sup>11</sup> Catedrático en Endocrinología. Director del Servicio de Diabetes, Endocrinología y Metabolismo. Clínica Médica II. Universidad de Roma "La Sapienza". Italia.

IgG contra *H. pylori* entre la DM y los controles (47,7 % [31/65] vs. 40,9 % [25/61]). Se encontró alto porcentaje de anticuerpos (IgG) contra *H. pylori* en los diabéticos tipo 1 (33 %, 7/21) en relación con los controles (14 %, 3/21), pero sin diferencias significativas. Existe mayor frecuencia de anticuerpos contra *Helicobacter* en los controles adultos, en comparación con los niños (55 %, 22/40 vs. 14 %, 3/21,  $p = 0,0025$ ). La frecuencia de anticuerpos contra *H. pylori* está mucho más elevada en los controles adultos quizá por la mayor posibilidad de exposición a reinfecciones. A pesar de estos resultados, no excluimos que la infección por *H. pylori* esté relacionada con la diabetes tipo 1, porque algunos estudios sugieren que la IgG contra *H. pylori* no persiste por largo tiempo.

*DeCS:* HELICOBACTER PYLORI/inmunologia;DIABETES MELLITUS/complicaciones; DIABETES MELLITUS INSULINO-DEPENDIENTE/complicaciones; FACTORES DE RIESGO; RIESGO AMBIENTALES; ISLOTES DE LANGERHANS; AUTOANTICUERPOS; IgG.

---

La patogénesis de la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) está basada en el concepto de que los factores ambientales, solos o en combinación con los genes de susceptibilidad a desarrollar la enfermedad, contribuyen a desencadenar el proceso autoinmune contra las células beta y conducen a la destrucción final de estas.<sup>1,2</sup> Existe gran cantidad de factores ambientales que inducen la aparición de diabetes tipo 1 entre los cuales se encuentran agentes químicos, factores dietéticos e infecciones virales.<sup>1-4</sup>

Los anticuerpos antiislotos pancreáticos (ICA) siguen siendo los mejores marcadores de riesgo para el desarrollo de la DM1.<sup>5-7</sup> Hasta ahora, ninguno de los otros anticuerpos descritos ha podido desplazar individualmente al ICA como el marcador principal de la DM1.<sup>8</sup>

La identidad de algunos antígenos de los ICA todavía permanece sin conocerse.

Recientemente se ha demostrado que con la combinación de 4 autoanticuerpos contra antígenos de las células beta pancreáticas (GAD65, ICA512/IA2, AAI e ICA) es probable detectar a todos los niños de reciente diagnóstico de la DM1<sup>9</sup> con autoinmunidad pancreática.

Los ICA se han encontrado con mayor frecuencia (60-90 %) en diabéticos tipo 1 recién

diagnosticados clínicamente (DM1 r.d.), mientras que esta frecuencia va disminuyendo a medida que aumenta la duración de la enfermedad.<sup>10,11</sup> Estos anticuerpos también están presentes en el 9 al 24 % de los pacientes cuyo diagnóstico inicial fue de diabetes tipo 2, y en la actualidad se consideran con diabetes autoinmune latente del adulto (LADA o AIDA) o diabetes tipo 1 de lenta progresión.<sup>12-15</sup> La frecuencia de ICA en familiares no diabéticos de primer grado (padres, hermanos e hijos) de los diabéticos tipo 1 (FPG) oscila entre 0,9 y 9,0 %<sup>10,16</sup> y entre 1,6-38 % en la diabetes gestacional (DG).<sup>17</sup> En los individuos sanos sin historia familiar de diabetes, esta frecuencia es solo de 0-1,6 %.<sup>10,11</sup>

Es de suma importancia identificar los factores ambientales de riesgo para la DM1 por las posibilidades de poner en práctica medidas preventivas. Diferentes investigadores han demostrado que las infecciones bacterianas constituyen uno de los agentes ambientales involucrados en la etiología de algunas de las enfermedades autoinmunes.<sup>18-20</sup> *Ebringer*, sugiere una relación de la *Klebsiella* en la etiología de algunas enfermedades asociadas al HLA-B27.<sup>19</sup> Tanto la micobacteria como el *Proteus*

*mirabilis* han sido relacionados con la patogénesis de la artritis reumatoidea.<sup>20,21</sup>

Recientemente se ha descrito una clase nueva de antígenos, denominados “superantígenos”, que se relaciona con el receptor de las células T (TCR) de una manera diferente a los antígenos convencionales.<sup>22</sup>

Los superantígenos se identifican tanto en fuentes bacterianas como virales.<sup>23-25</sup> Estos superantígenos normalmente interactúan con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II y la parte variable de la cadena beta del TCR, de lo cual resulta una estimulación de las células T.

En la actualidad, algunas evidencias apoyan la posible relación de la infección por *Helicobacter pylori* (IHP) y la diabetes mellitus como son: incremento de la IHP en obesos y diabetes tipo 2,<sup>26</sup> relación de la IHP con autoanticuerpos antigástricos parietales en niños y adolescentes diabéticos tipo 1,<sup>27</sup> con la respuesta humoral a la proteína de la leche de vaca en diabéticos jóvenes al principio de la enfermedad,<sup>28</sup> con el cáncer de páncreas,<sup>29</sup> la gastritis atrófica,<sup>30</sup> y la anemia perniciosa,<sup>31,32</sup> inducción de anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con la mucosa gástrica,<sup>33</sup> patogenia de la gastritis crónica y otras enfermedades en otros órganos,<sup>34</sup> la IHP induce más fuertemente la expresión de las moléculas MHC de clase II que el gamma interferón.<sup>35</sup>

Se ha encontrado también que existe relación entre la diabetes y algunas de las características o enfermedades relacionadas con la IHP, como la anemia perniciosa,<sup>36</sup> y el cáncer pancreático,<sup>37</sup> que mecanismos gastrointestinales autoinmunes pueden desempeñar un papel en la patogénesis de la DM1, y la asociación observada entre la positividad combinada para anticuerpos antiislotes (ICA) y antigástricos parietales (PCA) y los niveles incrementados de anticuerpos contra la proteína de la leche de vaca en niños diabéticos tipo 1 y sus

hermanos no diabéticos, implica que podría existir una transferencia potenciada de antígenos nutricionales a través de la barrera intestinal en estos sujetos.<sup>38</sup> La persistencia de ICA en diabéticos tipo 1 con una duración de la enfermedad mayor de 5 años está relacionada con un incremento de la frecuencia de PCA,<sup>39</sup> se sugiere que la presencia de PCA en la diabetes tipo 2 es un buen marcador para identificar pacientes con gastritis atrófica y sus complicaciones.<sup>40</sup>

Por toda la información anteriormente descrita nos proponemos determinar si la respuesta inmunológica a la infección por *Helicobacter pylori* está relacionada con la presencia de anticuerpos antiislotes pancreáticos (ICA), así como determinar también si existe asociación entre la presencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori*, diabetes mellitus y familiares de diabéticos tipo 1.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal en 167 sujetos diabéticos, familiares de primer grado y controles procedentes de la Clínica de Atención al Diabético, Departamento de Endocrinología Pediátrica del Instituto Nacional de Endocrinología y hospitales pediátricos de Ciudad de La Habana. Los controles fueron tomados de bancos de sangre y de niños que asistieron a la consulta de ortopedia sin historia familiar de diabetes, de los hospitales pediátricos. Los 167 sujetos fueron divididos de acuerdo con la presencia o no de anticuerpos antiislotes pancreáticos (ICA) como sigue:

– 66 sueros de sujetos ICA positivos:

- 21 de diabéticos tipo 1, recién diagnosticados, con edades de 1 a 18 años (media

11,9 ± 7,0), de los cuales 9 eran del sexo masculino y 12, del femenino.

- 24 de pacientes cuya diabetes fue clasificada inicialmente como tipo 2, con edades de 35 a 75 años (51,1 ± 12,0) y una duración de la enfermedad de 3,7 ± 4,8 años, de los cuales 15 eran del sexo masculino y 9, del femenino.
- 21 de familiares de primer grado de diabéticos tipo 1 (FPG), con edades de 3 a 53 años (24,5 ± 15,5), de los cuales 9 eran del sexo masculino y 12, del femenino; sus cifras de glucemias eran normales.

– 101 sueros de sujetos ICA negativos:

- 21 de sujetos sanos de la población normal, sin antecedentes familiares de diabetes, con edades de 1 a 14 años (11,0 ± 7,4), de los cuales 11 eran del sexo masculino y 10, del femenino; sus cifras de glucemias eran normales.
- 20 de diabéticos tipo 2 cuyos sueros resultaron sin anticuerpos anti-GAD y anti-IA2; las edades de estos pacientes estaban entre 39 y 77 años (47,8 ± 9,4) y la duración de su enfermedad era de 3,6 ± 3,6 años. En cuanto al sexo, 13 eran del masculino y 7, del femenino.
- 20 de FPG con edades de 2 a 52 años (23,3 ± 17,9), de los cuales 13 eran del sexo masculino y 7 del femenino; sus cifras de glucemias eran normales.
- 40 de sujetos normales de población adulta, como controles, sin antecedentes familiares de diabetes, con edades de 35 a 75 años (50,9 ± 11,4), de los cuales 25 eran del sexo masculino y 15, del femenino; las cifras de glucemias eran normales.

Los sujetos también fueron comparados con los controles de acuerdo con la

presencia de diabetes mellitus o no y con el tipo de diabetes.

A todos los sujetos se les determinó ICA y anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori*.

#### ANTICUERPOS ANTIISLOTES PANCREÁTICOS (ICA)

Los ICA se determinaron por el método de inmunofluorescencia indirecta, con incubación prolongada (18 h) a 4°C<sup>17,41</sup> en presencia de un inhibidor de proteasas (Inhprot I) (400 UI/mL de proteína, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba). Se emplearon secciones de páncreas humano sobre láminas previamente gelatinadas. Las muestras de sueros fueron diluidas de forma seriada en PBS-Inhprot I (PBS-I, pH 7,4). Para el revelado se utilizaron como anticuerpos la IgG humana y la Fab2 humana de cabra marcada con fluoresceína (1:64, Kallestad, Austin, Tx, USA). Los títulos de ICA se expresaron en unidades JDF y se comparó la dilución final de cada suero positivo con una curva estándar de dilución de un suero de referencia suministrado por el Taller Internacional de Inmunología de la Diabetes. Los títulos de ICA iguales o mayores de 10 unidades JDF fueron considerados positivos. Nuestro laboratorio muestra una validez de 90 %, sensibilidad de 75 % y especificidad de 75 % en los talleres internacionales de mejoramiento del ICA.

#### ANTICUERPO (IgG) CONTRA *HELICOBACTER PYLORI*

Los niveles de anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* se determinaron por un ELISA mediante un kit comercial de la MarDx

Diagnostic, Inc. (Distribuidor en Italia, Arnika). Se consideró como positivo el valor índice  $\geq 1,2$ .

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una estadística descriptiva de las variables clínicas de nuestra muestra, con el empleo de estadígrafos descriptivos como media y desviación estándar. Para detectar diferencias significativas entre los grupos estudiados en cuanto a las variables clínicas cuantitativas se realizó la prueba t de Student para muestras independientes. En el caso de las variables clínicas cualitativas y la frecuencia entre los grupos se utilizó la prueba exacta Fisher o Chi-cuadrado, según correspondió, para detectar diferencias entre los grupos. La prueba de correlación de rangos Spearman's se aplicó para comparar el grado de correlación entre los niveles de anticuerpos contra HP e ICA.

Se consideró como significativo una  $p < 0,05$  con el 95 % de confianza. Para realizar los cálculos y gráficos estadísticos se utilizó el paquete computacional SPSS versión 8.0.

## RESULTADOS

Se observó una frecuencia de anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* del 38 % (25/66) en los sujetos ICA+ y del 39,6 % (40/101) en los sujetos ICA negativos. No existe correlación entre los niveles de anticuerpos (IgG) contra HP e ICA.

No hubo diferencias entre los pacientes con diabetes mellitus (DM1, DM2 ICA- y DM2 ICA +) y los controles, en cuanto a la presencia de anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori* (tabla 1).

TABLA 1. Anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* en la diabetes mellitus y controles

	Diabetes mellitus + /n (%)	Controles + /n (%)
Anticuerpos (IgG) contra <i>Helicobacter pylori</i>	31/65 (47,7)	25/61 (40,9)

+: Número de sujetos positivos. n: Total de individuos NS

Se encontró un alto porcentaje de anticuerpos (IgG) en los diabéticos tipo 1 (33 %, 7/21) en relación con los controles (14 %, 3/21), pero sin diferencias significativas.

En los familiares de primer grado de diabéticos tipo 1 (con presencia de ICA o sin ella) no encontramos diferencias en relación con los controles (9/41 [21,9 %] vs. 25/61 [40,9 %]) en cuanto a la frecuencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori*, a pesar que la misma fue un poco más baja en los primeros.

No existen diferencias significativas entre los diabéticos tipo 2 ICA+ e ICA- al compararlos con los controles adultos en cuanto a la presencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* (tabla 2). No se observan diferencias con respecto a la edad y el sexo entre los grupos comparados.

Se muestra mayor frecuencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en los controles adultos en comparación con los niños (55 %, 22/40 vs. 14 %, 3/21,  $p=0,0025$ ). Al comparar la edad de los controles de niños y adolescentes con los controles adultos encontramos diferencias significativas ( $11,0 \pm 7,4$  vs  $50,9 \pm 11,4$ ,  $p < 0,0001$ ).

En la tabla 3 se observan las frecuencias de anticuerpos (IgG) a *Helicobacter pylori* en diferentes países, las cuales no difieren de las encontradas en este estudio.

TABLA 2. Anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* en diabéticos tipo 2 (ICA + e ICA-) y contra adultos

	DM2 ICA- +/n (%)	"DM2" ICA + +/n (%)	Control adultos +/n (%)
Anticuerpos positivos contra <i>Helicobacter pylori</i> (IgG)	11/20 (55,0)	13/24(54,1)	22/40 (55,0)

DM2: Diabéticos tipo 2. "DM2": Diabéticos clasificados inicialmente como tipo 2 con presencia de ICA. +: Número de sujetos positivos n= Total de individuos.

TABLA 3. Frecuencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* diabéticos (tipo 1 y 2) y controles en Cuba en comparación con diferentes países

Países	DM1 +/n (%)	DM2 +/n (%)	Controles +/n (%)
Cuba, 2001	7/21 (33) 4-15 años TD= 0	24/44 (54,5) 41-77 años TD =0-15 años	3/21 (14) 1-14 años 22/40 (55) 35-75 años
España, 1998 <sup>42</sup>	38/80 (47) 16-55 años TD = 0-15 años		33/100 (33) 17-71 años
Italia, 1997 <sup>28</sup>	18/69 (26) 1-20 años TD =1-16 años		17/310 (5,4) 1-20
Holanda, 1996 <sup>44</sup>	/45 < 30 (15) 30-40 (20) 40-50 (35) 50-60 (63)	/98  40-50 (45) 50-60 (70) 60-70 (75)	/159 20 % 10 % 25 % 42 % 35 %
Polonia,1996 <sup>43</sup>	4/11 (36) 17-25 años TD =1-5 años	11/26 (42) 35-80 años TD =1-23 años	71/100 (71) Media de 48 años

TD: Tiempo de duración de la diabetes.

## DISCUSIÓN

En los últimos años se han encontrado algunas evidencias que apoyan la posible relación de la infección por *Helicobacter pylori* (IHP) y la diabetes mellitus.<sup>26-28,42-44</sup> Diferentes investigadores han demostrado que las infecciones bacterianas constituyen uno de los agentes ambientales involucrados en la etiología de algunas de las enfermedades autoinmunes.<sup>18-21</sup>

Existe gran cantidad de factores ambientales que inducen la aparición de diabetes tipo 1 entre los cuales se encuentran agentes químicos, factores dietéticos e infecciones virales y recientemente se han incluido a las bacterias también como uno de estos factores.<sup>1-4,45</sup>

En este estudio no hallamos asociación entre la exposición a *Helicobacter pylori* (anticuerpos [IgG] contra HP) y la presencia

de ICA, ni con la diabetes mellitus, el tipo de diabetes y los familiares de primer grado de diabéticos tipo 1. Otros estudios confirman nuestros resultados.<sup>42,43</sup>

Este es el primer informe sobre el estudio de la frecuencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en los diabéticos tipo 2 ICA+ y familiares de primer grado de diabéticos tipo 1.

En la diabetes tipo 1 hubo mayor frecuencia de anticuerpos (IgG) contra HP en relación con los controles, aunque sin diferencias significativas, lo cual coincide con lo reportado por distintos autores.<sup>42,43</sup>

*De Luis* y otros<sup>42</sup> encontraron mayor frecuencia de ICA en diabéticos tipo 1 positivos para los anticuerpos contra HP en comparación con los que presentaron ausencia de los anticuerpos contra HP (23,9 % vs. 5,9 %,  $p < 0,05$ ). En cambio, en nuestro estudio no observamos diferencias con respecto a la presencia de anticuerpos contra HP entre los diabéticos y sujetos ICA positivos en comparación con los ICA negativos. *De Luis* y otros hallaron también que la presencia de anticuerpos contra HP estaba relacionada con la duración de la enfermedad, porque estos anticuerpos fueron más frecuentes en los diabéticos con una duración de la enfermedad de 0 a 3 años, por lo que es lógico que exista una mayor frecuencia de ICA en los sujetos con anticuerpos contra HP, ya que los ICA son más frecuentes cuanto más cercanos se esté al diagnóstico de la enfermedad, porque los mismos disminuyen con la duración de la diabetes tipo 1.<sup>10,11,46</sup> En nuestro estudio, estos datos no se muestran por analizar los diabéticos tipo 1 solo al momento del diagnóstico.

Una posible explicación por la cual quizás no hemos encontrado asociación entre la frecuencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* y la diabetes tipo 1 de diagnóstico reciente, así como con los ICA,

podiera deberse a que –como se menciona en algunos estudios– la IgG contra HP no necesariamente persiste por un largo tiempo, además pudieran existir sujetos con endoscopia positiva a *Helicobacter* aun con una serología negativa para este germen.<sup>47,48</sup>

Por lo tanto, de ocurrir una IHP, que sea capaz de desencadenar o inducir una respuesta autoinmune contra las células  $\beta$  en las etapas iniciales de la patogenia de la diabetes tipo 1, mucho antes del inicio clínico de la enfermedad, o de la presencia de marcadores de la autoinmunidad pancreática, sería poco probable encontrar una alta frecuencia de los anticuerpos (IgG) contra HP.

Algunos investigadores han encontrado una susceptibilidad genética para ser infectado por HP, entre los genes se encuentran algunos HLA-DR y DQA1\*0301 en pacientes con úlcera duodenal y gástrica positivos para HP,<sup>49-51</sup> el DQA1\*0301 es uno de los genotipos de alto riesgo en el desarrollo de una diabetes tipo 1 de origen autoinmune.<sup>51-53</sup> Por todo lo anteriormente expuesto, es posible que la infección por *Helicobacter pylori* en algunos sujetos pueda inducir el desarrollo de la diabetes tipo 1 cuando coincidan las susceptibilidades de ser infectados por HP y de desarrollar la enfermedad.

Por lo antes mencionado, analizamos la presencia de autoanticuerpos pancreáticos (ICA, anticuerpos antiinsulina [AAI], antigitámico descarboxilasa [AGAD] y antitirosina fosfatasa [AIA2]) en niños no diabéticos positivos para *Helicobacter pylori* por la prueba de ureasa (n=10), para conocer si dicha infección es capaz de generar la producción de algunos de estos autoanticuerpos. Encontramos que ninguno de los niños presentó ICA, ni AAI. Sin embargo, el 20 y el 10 % de ellos presentaron anticuerpos anti-GAD65 y anti-IA2, respectivamente, por lo que

sugerimos estudiar mayor número de muestra de niños con la infección por HP y realizar un seguimiento de los sujetos positivos para los anticuerpos asociados a diabetes tipo 1.

Nuestro grupo de trabajo, a pesar de estos resultados, no excluye la posibilidad que la IHP esté relacionada con el desarrollo de la diabetes tipo 1 de origen autoinmune, porque esta infección, además de producir, al nivel de la mucosa gástrica, daños que dan lugar a distintas afecciones, es capaz de estimular respuestas inmunes locales y sistémicas,<sup>50</sup> e inducir la producción de  $\gamma$ -interferón, otras citoquinas en sangre periférica o mucosa gástrica y la expresión de las moléculas MHC de clase II en la mucosa gástrica,<sup>35,52</sup> lo que quizás pueda suceder también a nivel de las células  $\beta$ .

Como en la mayoría de los estudios epidemiológicos realizados,<sup>44,54,55</sup> nosotros encontramos que la frecuencia de anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* fue mayor en los grupos de mayor edad, estas diferencias quizás se deban a una mayor posibilidad de exposición a reinfecciones en los adultos. La forma de transmisión de la infección por *Helicobacter pylori* (IHP) no está bien determinada, se cree que sea por vía oral, de persona a persona, oral-fecal o ambas.<sup>54</sup> Otros autores plantean que la adquisición de la IHP

aumenta con la edad, está inversamente relacionada con la situación socio-económica, grupos familiares y es mucho más alta en países en vías de desarrollo.<sup>44,54</sup>

En conclusión, no encontramos asociación entre la presencia de anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* y los ICA en los grupos estudiados, ni contra HP e ICA, tampoco hubo diferencias en las frecuencias de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* entre la diabetes mellitus y los controles, ni entre los familiares de primer grado de diabéticos tipo 1 y los controles, sin embargo, esta frecuencia está mucho más elevada en los controles adultos que en niños.

#### AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue subsidiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de Cuba (CITMA). Los autores desean expresar su agradecimiento por la asistencia brindada a los técnicos de laboratorio *Lucia Chapel, Susana García, Angela Guerrero, Ayde Valverde y Marisol Hernández*. Agradecemos también la colaboración brindada para la elaboración y realización de este trabajo a los institutos y hospitales que participaron en esta investigación.

#### SUMMARY

---

66 ICA-positive patients were studied: 21 type 1 diabetics, 24 diabetics initially classified as type 2 and 21 first-degree relatives of type 1 diabetics. They were compared with 101 ICA-negative patients: 20 type 2 diabetics, 20 first-degree relatives, 21 children and 40 non-diabetic adult controls to analyze if the immunological response to *H. pylori* is associated with islet cell antibodies (ICA). The ICA were determined by the indirect immunofluorescence method with prolonged incubation and the levels of antibodies (IgG) versus *H. pylori* (HP) by an ELISA using a commercial kit. It was observed a frequency of antibodies (IgG) versus *H. pylori* of 38.0 % (25/66) in ICA-positive patients and of 39.6 % (40/101) in ICA-negative patients. No correlation was found between the presence of antibodies (IgG) versus *H. pylori* and the ICA in the studied groups. There were no differences as regards the presence of IgG antibodies versus *H. pylori* between diabetes mellitus and the controls

(47.7 % [31/65] vs. 40.9 % [ 25/61]). It was observed a high percentage of antibodies (IgG) vs. *H. pylori* in type 1 diabetics (33 %, 7/21) in relation to the controls (14 %, 3/21), but with no significant differences. The frequency of antibodies vs. *Helicobacter* in adult controls is higher than in children (55 %, 22/40 vs. 3/21,  $p=0.0025$ ). The frequency of antibodies vs. *H. pylori* is much more elevated in the adult controls may be because of the greater possibility of exposure to reinfections. In spite of these results, we do not exclude the idea that the infection due to *H. pylori* is related to type I diabetes, since some studies suggest that IgG versus *H. pylori* does not persist for a long time.

*Subject headings:* HELICOBACTER PYLORI/immunology; DIABETES MELLITUS/complications; DIABETES MELLITUS, INSULIN-DEPENDENT/complications; RISK FACTORS; ENVIRONMENTAL RISKS; ISLETS OF LANGERHANS; AUTOANTIBODIES; IgG.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akerblom HK, Knip M, Hyoty H, Reijonen H, Virtanen S, Savilahti E, et al Interaction of genetic and environmental factors in pathogenesis of insulin dependent diabetes mellitus. Clin Chimic Acta 1997; 257:143-56.
2. Haverkos HW. Could the aetiology of IDDM be multifactorial? Diabetologia 1997;40:1235-40.
3. Yoon JW. A new look at viruses in type 1 diabetes. Diabetes Metab Rev 1995; 11: 83-107.
4. Yoon JW, Kim CJ, Pak CY, McArthur RG. Effects of environmental factors on the development of insulin dependent diabetes mellitus. Clin Invest Med 1987; 10:457-69.
5. Gorsuch AN, Spencer KM, Lister J, McNally JM, Dean BM, Bottazzo GF, et al. Evidence for a long prediabetic period in type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus. Lancet 1981;II:1363-5.
6. Srikanta S, Ganda OP, Rabizadeh A, Soeldner JS, Eisenbarth GS. First degree relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. Islet cells antibodies and abnormal insulin secretion. N Engl J Med 1985;13:461-4.
7. Andreani D, Di Mario U, Pozzilli P. Prediction, prevention, and early intervention in insulin-dependent diabetes. Diabetes Metab Rev 1991;61-77.
8. Harrison LC. Multiple islet antigens in IDDM: order out of chaos?. Internaciona Diabetes Monitor 1992:1-6.
9. Ongagna JC, Levy-Marchal C. Sensitivity at diagnosis of combined  $\beta$ -cell autoantibodies in insulin dependent diabetes children. Diabetes & Metabolism 1997;23:155-60.
10. Riley WJ, Maclaren NK. Islet cell antibodies. En: Samols E., ed The Endocrine Pancreas. Cap 21. New York: Raven Press; 1991.P. 409-422.
11. Lipton R, Laporte RE. Epidemiology of islet cell antibodies. Epidemiol Reviews 1989;11:182-203.
12. Groop L, Bottazzo GF, Doniach D. Islet cell antibodies identify latent type 1 diabetes in patients aged 35-75 at diagnosis. Diabetes 1986;35:237-41.
13. Gottsater A, Samuelsson U, Nilsson S, Lernmark A, Sundkvist G. Islet cell antibodies and fasting plasma C-peptide during the first 10 yr after diagnosis in patients with diabetes mellitus diagnosed in adult age. Diabetes Nut Metabol 1992;5:243-8.
14. Gottsater A, Landin-Olsson M, Fernlund P, Lernmark A, Sundkvist G.  $\beta$ -Cell function in relation to islet cell antibodies during the first 3 yr after clinical diagnosis of diabetes in type II diabetic patients. Diabetes Care 1993;16:902-10.
15. Cabrera-Rode E, Licea M, Molina G, Arranz C, Díaz-Horta O, Uriarte A. Inmunogenética y caracterización clínico metabólica en la diabetes mellitus no insulino dependiente de acuerdo a la presencia de anticuerpos anti-islole pancreáticos. Avances Diabetol 1995;10:101-10.
16. Krischer J, Schatz D, Riley W, Spillar R, Silverstein J, Schwartz S, et al. Insulin and islet cell antibodies as time-dependent covariates in the development of insulin-dependent diabetes: A prospective study in relatives. J Clin Endocrinol Metabolism 1993;77:743-9.

17. Mauricio D, Corcoy R, Codina M, Morales J, Balsells M, de Leiva A. Islet cell antibodies and beta-cell function in gestational diabetic women: comparison to first-degree relatives of tipe 1 (insulin-dependent) diabetic subjects. *Diabetic Medicine* 1995;12:1009-14.
18. Hol C, Bloembergen P, Van Dijk H. Bacterium-induced atoimmune reactivity. *Autoimmunity* 1995;15:49-54.
19. Ebringer A. The cross-tolerance hypothesis, HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Br J Rheumatol* 1983;22S:53-66.
20. Ebringer A, Cox NL, Abuljadaya I, Ghuloom M, Khalafpour S, Ptaszynska T, Shodjai-Moradi F, Wilson C. Klebsiella antibodies in ankylosing spondylitis and proteus antibodies in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1988;27S2:72-85.
21. Van Eden W, Thole JE, Van der Zee R, Noordzij A, Van Embden JE, Hensen EJ, et al. Cloning of the mycobacterial epitope recognized by T Lymphocytes in adjuvant arthritis. *Nature* 1988;331:171-3.
22. Conrad B, Trucco M, Superantigens as the etiopathogenetic factors in the development of insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 1994;10:309-38.
23. Marrack P, Kappler JW. The staphylococcal enterotoxins and the relatives. *Sciences* 1990;248:705-11.
24. Choi Y, Kappler JW, Marrack P. A superantigen in encoded in the open reading frame of the 3' long terminal repeat of mouse mammary tumour virus. *Nature* 1991;350:203-7.
25. Acha-Orbea H, Shakhov AN, Scarpellino L, Kolb E, Mueller V, Vessaz-Shaw A, et al. Clonal detection of V $\beta$ 14-bearing T cells in mice transgenic for mammary tumour virus. *Nature* 1991;350:207-11.
26. Perdicchizzi G, Bottari M, Pallio S, Fera MT, Carbone M, Barresi G. Gastric infection by *Helicobacter pylori* and antral gastritis in hyperglycemic obese and in diabetic subjects. *New Microbiol* 1996;19:149-54.
27. Barrio R, Roldan MB, Alonso M, Canton R, Camarero C. *Helicobacter pylori* infection with parietal cell antibodies in children and adolescents with insulin dependent diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1997;10:511-6.
28. Pocecco M, Buratti E, Tommasini A, Torre G, Not T. High risk of *Helicobacter pylori* infection associated with cow's milk antibodies in young diabetics. *Acta Paediatr* 1997;86:700-3.
29. Raderer M, Wrba F, Kornek G, Maca T, Koller DY, Weinlaender G, et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and pancreatic cancer. *Oncology* 1998;55:16-9.
30. Negrini R, Savio A, Poiesi C, Appelmelk BJ, Buffoli F, Paterlini A, et al. Antigenic mimicry between *Helicobacter pylori* and gastric mucosa in the pathogenesis of body atrophic gastritis. *Gastroenterology* 1996;111:655-5.
31. Ma JY, Borch K, Sjostrand SE, Janzon L, Mardh S. Positive correlation between H,K-adenosine triphosphatase autoantibodies and *Helicobacter pylori* antibodies in patients with pernicious anemia. *Scand J Gastroenterol* 1994;29:961-5.
32. Varis O, Valle J, Siurala M. Is *Helicobacter pylori* involved in the pathogenesis of the gastritis characteristic of pernicious anaemia? Comparison between pernicious anaemia relatives and duodenal ulcer relatives. *Scand J Gastroenterol* 1993;28:705-8.
33. Negrini R, Lisato L, Zanella I, Cavazzini L, Gullini S, Villanacci V, et al. *Helicobacter pylori* infection induces antibodies croos-reacting with human gastric mucosa. *Gastroenterology* 1991;101:437-45.
34. Ko GH, Park HB, Shin MK, Park CK, Lee JH, Youn HS, et al. Monoclonal antibodies against *Helicobacter pylori* cross-react with human tissue. *Helicobacter* 1997;2:210-5.
35. Maekawa T, Kinoshita Y, Matsushima Y, Okada A, Fukui H, Waki S, et al. *Helicobacter pylori* induces proinflammatory cytokines and major histocompatibility complex class II antigen in mouse gastric epithelial cells. *J Lab Clin Med* 1997;130:442-9.
36. Davis RE, McCann VJ, Stanton KG. Type 1 diabetes and latent pernicious anemia. *Med J Aust* 1992;156:160-2.
37. Balkau B, Barrett-Connor E, Eschwege. Pancreatic cancer and diabetes. *New Engl J Med* 1994;331:1526-7.
38. Vahasalo P, Petays T, Knip M, Miettinen A, Saukkonen T, Karjalain J, et al. Relation between antibodies to islet cell antigens, other autoantigens and cow's mil proteins in diabetic children and unaffected siblings at the clinical manifestation of IDDM. The Childhood Diabetes in Finland study group. *Autoimmunity* 1996;23:165-74.
39. Neufeld M, Maclaren NK, Riley WJ, Lezotte D, McLaughlin JV, Silverstein J, et al. Islet cell and other organ-specific antibodies in U.S. Caucasians and blacks with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1980;29(8):589-92.
40. Corti F, Lera M, Meniconi RM, Lucarini P, Gustinucci R. Gastric and hematologic changes in patients with gastric parietal cell autoantobodies and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Minerva Med* 1992;83:597-600.

41. Pilcher C, Elliott RB. Improved sensitivity of islet cell cytoplasmic antibody assay in diabetics. *Lancet* 1984;1:1352.
42. De Luis DA, de la Calle H, Roy G, Martin de Argila C, Valdezate C, Canton R, et al. Helicobacter pylori infection and insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1998;39:143-6.
43. Malecki M, Bieri AI, Galicka-Latala D, Sthachura J, Sieradzki J. The prevalence of Helicobacter pylori infection and types of gastritis in diabetic patients. The Krakow study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996;104:365-9.
44. Oldenburg B, Diepersloot RJA, Hoekstra JBL. High seroprevalence of Helicobacter pylori in diabetes mellitus patients. *Dig Dis Sciences* 1996;41:458-61.
45. Kolb H. On The aetiopathogenesis of type 1 diabetes: Key roles for innate immunity and dietary antigens?. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1998;107(Supp12):S13-6.
46. Cabrera-Rode E, Díaz-Horta O, Rendon A, Molina G, Vera M, Licea M, et al. Prevalence of islet cell antibodies (ICA) in diabetes mellitus and other diseases in Cubans. *Autoimmunity* 1997;26:7-9.
47. Peña AS, Endtz HP, Offerhaus GJA, Hoogenboom-Verdegaal A, van Duijn W, de Vargas N, et al. Value of serology (ELISA and Immunoblotting) for the diagnosis of Campylobacter pylori infection. *Digestion* 1989;44:131-141.
48. Bonamico M, Monti S, Luzzi I, Maglioca FM, Cipolletta E, Calvani L, et al. Helicobacter pylori infection in families of Helicobacter pylori positive children. *Ital J Gastroenterol* 1996;28:512-7.
49. Go MAE. What are the host factors that place an individual at risk for Helicobacter pylori-associated disease?. *Gastroenterology* 1997;113:S15-S20.
50. Ernst PB, Crowe SE, Reyes VE. How does Helicobacter pylori cause mucosal damage? The inflammatory response. *Gastroenterology* 1997;113S35-S42.
51. Azuma T, Konishi J, Tanaka Y, Irai M, Ito S, Kato T, et al. Contribution of HLA-DQA gene to host's response against Helicobacter pylori (letter). *Lancet* 1994;343:542-3.
52. Scharanz DB, Lernmark A. Immunology in diabetes: An Update. *Diabetes Metab Rev* 1998;14:3-29.
53. Buzzetti R, Quattrocchi CC, Nistico L. Dissecting the genetics of type 1 diabetes: relevance for familial clustering and differences in incidence. *Diabetes Metab Rev* 1998;14:111-28.
54. Cilla G, Pérez-Trallero E, García-Bengoechea M, Marimon JM, Arenas JI. Helicobacter pylori infection: A seroepidemiological study in Gipuzkoa, Basque Country, Spain. *European J Epidemiol* 1997;13:945-9.
55. Gasparrini G, Pretolani S, Bomvisini F. A population based study of Helicobacter pylori infection in a European country: The San Marino study. Relation with gastrointestinal diseases. *Gut* 1995;36:838-44.

Recibido: 25 de septiembre del 2001. Aprobado: 29 de noviembre del 2001.

Lic. *Eduardo Cabrera Rode*. Instituto Nacional de Endocrinología, Zapata y D, El Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba. CP10400. Correo electrónico: diabetes@infomed.sld.cu