

***Helicobacter pylori* en pacientes con diferentes enfermedades gastroduodenales**

***Helicobacter pylori* in patients with different gastroduodenal diseases**

María Teresa Martínez Echavarría^I; Raúl Ferreira Capote^{II}; Maximino González Torres^{III}

^I Licenciada en Microbiología. La Habana, Cuba.

^{II} Licenciado en Bioquímica. La Habana, Cuba.

^{III} Especialista de I Grado en Medicina General Integral. Especialista de I Grado en Gastroenterología. Instructor. La Habana, Cuba.

RESUMEN

El papel que desempeña *Helicobacter pylori* en el desarrollo de diferentes enfermedades digestivas ha sido ampliamente investigado y discutido. Se estudió la presencia de esta bacteria en muestras de biopsia obtenidas mediante endoscopia. Se tomaron 69 pacientes con úlcera duodenal, úlcera gástrica, gastritis crónica y dispepsia. Los diagnósticos de úlcera gástrica y gastritis crónica fueron confirmados histológicamente. Se analizaron 27 úlceras duodenales, 12 úlceras gástricas, 24 gastritis crónicas y 6 dispepsias. Se detectó la presencia de *Helicobacter pylori* a través de la amplificación de un fragmento del gen *Ure A* mediante la reacción en cadena de la polimerasa, en el 100 % de las úlceras duodenales, en el 100 % de las úlceras gástricas, en el 83 % de las dispepsias y en el 92 % de las gastritis crónicas, para una prevalencia total del 95,7 %.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, enfermedad ulceropéptica, dispepsia.

ABSTRACT

The role played by *Helicobacter pylori* in the development of different digestive diseases has been widely studied and discussed. The presence of this bacterium in biopsy samples obtained by endoscopy was studied. 69 patients with duodenal ulcer, gastric ulcer, chronic gastritis and dyspepsia were investigated. The diagnoses of gastric ulcer and chronic gastritis were histologically confirmed. 27 duodenal ulcers, 12 gastric ulcers, 24 chronic gastritis and 6 dyspepsias were analyzed. The presence of *Helicobacter pylori* was detected through the

amplification of a fragment of the Ure A gene by polymerase chain reaction in 100 % of the duodenal ulcers, in 100 % of the gastric ulcers, in 83 % of the dyspepsias and in 92 % of chronic gastritis, for a total prevalence of 95.7 %.

Key words: *Helicobacter pylori*, ulceropeptic disease, dyspepsia.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad ácido-péptica es altamente prevalente en el mundo entero y *Helicobacter pylori* (HP) es considerado uno de los factores más determinantes en su patogenia al estar presente en el 80 % de los casos con gastritis y en más del 90 % de los que padecen úlcera duodenal (UD). También se asocia con la malignización de las lesiones inflamatorias del estómago, por lo que ha sido clasificado como carcinogénico 1 por la OMS.¹

En general, la infección por HP, aunque silente en la mayoría de los casos, puede manifestarse como una úlcera péptica en 1 de cada 6 infectados. La prevalencia de la úlcera gástrica (UG) en este caso es del 80 al 85 %. La etiología de la UD, en cambio, está íntimamente relacionada con la infección crónica por HP. El mecanismo condicionante es a través de una inflamación crónica gastroduodenal, con gastritis crónica activa (GC), duodenitis congestiva y erosivas frecuentemente asociadas e hipergastrinemia, todo lo cual favorece la reactivación del proceso ulceroso, bien de forma espontánea o agravada por factores exógenos. Todo ello lleva a la conclusión de que HP es el agente responsable de la aparición y mantenimiento de la UD, que debe ser considerada como una enfermedad infecciosa.²

Los métodos convencionales para el diagnóstico asistencial de HP son el cultivo, la histología y la prueba de la ureasa. También se emplean técnicas no invasivas como la serología y la prueba de la urea aspirada. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método de alta especificidad y sensibilidad, que ha sido sugerido como patrón de oro para el estudio de HP por la confiabilidad que reporta en muestras de biopsia gástrica, por lo que su empleo en la detección es muy difundido.

A pesar de la importancia de la detección de HP, en nuestro país su diagnóstico mediante técnicas convencionales es restringido y son pocas las instituciones que cuentan con metodologías PCR para ello. Por tanto, nuestro laboratorio ha introducido un método PCR para la detección en muestras de biopsia gástrica de HP con fines asistenciales. En este trabajo se reportan los resultados obtenidos en el estudio de los primeros 69 individuos que presentan diferentes afecciones gastroduodenales.

MÉTODOS

El estudio se realiza en febrero del 2001 a 69 pacientes cubanos adultos, a los que se les realizó una panendoscopia con un videogastroscopio PENTAX EG 2931 y pinzas o fórceps de biopsias de la firma OLYMPUS. Se incluyeron los pacientes con diagnóstico endoscópico de UD, dispepsia (D), GC o UG, los 2 últimos confirmados

histológicamente. Se excluyeron los pacientes tratados con antibióticos, derivados imidazólicos o productos bismutados, omeprazol (o sus variantes farmacológicas), aspirina, antiinflamatorios no esteroideos y esteroideos en los últimos 30 d previos a la endoscopia, con sangrado digestivo alto activo, con cirugía gástrica previa (gastrectomías) y con síndrome pilórico completo o incompleto.

A los casos con diagnóstico endoscópico de GC o UG, se les tomó una muestra para biopsia que se sumergió en una solución de formol al 10 %, para la confirmación histológica.

Para detectar HP se tomó una muestra para biopsia gástrica astral, a 5 cm del píloro. La muestra se colocó en un microtubo con 0,5 mL de solución salina fisiológica estéril y se extrajo el ADN mediante el método de lisis total con Tween 20 y Proteínasa K.³

Se amplificó un fragmento de 204 pb del gen ure A, mediante un sistema seminested-primer.⁴ Se utilizaron los cebadores descritos en la [tabla 1](#), sintetizados por la GIBCO. Las reacciones se realizaron en un termociclador *minicycler research*. El programa tuvo las siguientes características: 94°C x 1 min, 55°C x 1 min y 72°C x 1 min. Se realizan: 30 ciclos para el primer proceso y 20 ciclos para el segundo.

Para determinar la sensibilidad del PCR se realizó la amplificación de 7 diluciones seriadas en base 10, desde 10³ nanogramos (ng) hasta 10⁻³ ng, de ADN purificado de una cepa pura de HP previamente cuantificada por espectrofotometría. Paralelamente, se amplificaron diluciones crecientes de una suspensión de HP cuantificada mediante siembra por dilución en placa. En todos los casos se añadieron 100 ng de ADN genómico humano.

En el estudio de la especificidad del PCR se amplificaron 100 ng de ADN genómico humano, *Escherichia coli*, *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Pseudomona aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoneae*, *Klebsiella oxytoca* y *Citrobacter cinaedi*.

Los productos se visualizaron mediante una electroforesis submarina en gel de agarosa al 2 %, teñido con bromuro de etidio. El tamaño del amplicón se verifica mediante comigración con el marcador de peso molecular 100 pb Ladder (Promega).

Los resultados se vertieron en una matriz de cálculo del sistema EXCEL y se realizaron cálculos de porcentaje.

RESULTADOS

En el ensayo de sensibilidad del PCR se detectan hasta 3 unidades formadoras de colonias (ufc) a partir de suspensiones bacterianas y hasta 8 x 10⁻³ ng a partir de ADN bacteriano purificado. Esto implica detección de positividad con niveles de infección de al menos 100 ufc por muestra de biopsia. En el ensayo de especificidad del PCR no se obtienen falsos positivos en ninguna de las muestras estudiadas.

En general, la prevalencia de la infección por HP fue del 95,7 %. La UD y la UG ocuparon el primer lugar con un 100 %. Le siguió la GC con una prevalencia del 92 % y, por último, tenemos la D con 83 % ([tabla 2](#)).

DISCUSIÓN

Aunque el número de pacientes no es suficiente para definir asociaciones, los resultados parecen indicar que, al igual que en otras poblaciones, la infección por HP está vinculada a las enfermedades úlcero pépticas y a la GC en nuestra población.

La UG es una lesión profunda de la mucosa gástrica que llega hasta la *muscularis mucosae*. Generalmente es desencadenada por factores agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal. Anualmente se presentan 300 000 nuevos casos. HP es uno de los factores agresivos que puede desencadenar una UG, que causa tanto daños anatómicos como funcionales. En el estómago afecta funcionalmente: el incremento de ácido clorhídrico, el aumento de secreción de gastrina y el aumento del vaciamiento gástrico, y anatómicamente, lesiona las células parietales alterándolas, lo cual da como resultado una metaplasia intestinal.⁵ En este estudio encontramos que el 100 % de los pacientes con UG padecían una infección con HP. Este resultado se parece al encontrado por *González-Carbajal* y otros,⁶ quienes reportan una asociación del 91 %, en un estudio realizado mediante análisis histológico.

La GC producida por HP se considera actualmente como precursora de la úlcera duodenal, se señalan algunas alteraciones histológicas que caracterizan la gastritis por HP, como respuesta del huésped a la presencia de la bacteria mediante la presencia de focos de neutrófilos, lo que produce una respuesta inflamatoria aguda focal sobre la respuesta inflamatoria crónica de la mucosa. También, la respuesta de tipo inmunológico de la mucosa, con la formación de verdaderos folículos linfoides se describen en la gastritis crónica antral por HP; se plantea que a mayor grado de lesión de la mucosa, es mayor la posibilidad de la presencia de UD.⁷ En este trabajo se ha investigado la presencia de HP en pacientes con GC, y se observó que el 92 % de ellos estaban infectados por el germen. No podemos decir si en ellos apareció con posterioridad una UD, pero de cualquier forma, estos resultados se parecen mucho a los encontrados por *González-Carbajal* y otros,⁸ quienes reportaron, en un estudio realizado a 196 pacientes con GC, que el 96,2 % de los casos estudiados tenían HP. Otros estudios realizados en otras partes del mundo señalan que HP constituye la causa primordial de GC.⁹

La asociación entre la UD y HP ha sido repetidamente confirmada en estudios provenientes de todo el mundo, aunque no está claro cómo se produce una UD si HP se localiza preferentemente en el antro gástrico. Se han postulado mecanismos gástricos, especialmente la demostrada hipergastrinemia e hiperpepsinogenemia tipo I inducida por HP,¹⁰ que favorecerían la hipersecreción de ácido y la aparición de UD. Sin embargo, el real efecto de HP sobre la secreción de ácido gástrico es discutido. Mayor importancia parecen tener los efectos sobre el duodeno. El 90 % de los pacientes con UD tienen áreas de metaplasia gástrica en el bulbo duodenal, lo que probablemente corresponde a una respuesta inespecífica al daño, favorecida por hipersecreción de ácido. En el 50 % de los pacientes con UD, estas áreas de metaplasia están colonizadas por HP.¹¹ Una vez colonizado el duodeno, HP podría inducir úlcera mediante la inflamación o la liberación de toxinas. En nuestro estudio pudimos apreciar que el 100 % de los pacientes estudiados con UD, estaban infectados con HP, lo cual se corresponde con los resultados obtenidos por *Brizuela* y otros¹² en 1999, quienes estudiaron la asociación de HP a UD mediante la prueba de la ureasa en biopsia gástrica, en pacientes cubanos y observaron una correlación del 93,8 %. En un estudio realizado en Chile, 98 de 100 pacientes consecutivos con UD portaban HP en la mucosa gástrica antral. Esto ha llevado a plantear que existe una relación causal entre ambas condiciones,¹³ lo que se ve apoyado por el efecto de la erradicación sobre la actividad y recidiva de la enfermedad ulcerosa. Sin

embargo, la uniformidad de los pacientes con úlceras duodenales a este respecto contrasta significativamente con la ya señalada variabilidad en la prevalencia de infección por HP en población asintomática de diversas áreas geográficas y/o niveles socio-económicos y la falta de correlación entre la prevalencia de infección por HP y la prevalencia de UD o UG en diversas poblaciones.¹⁴ La simple asociación no garantiza causalidad, lo que es especialmente cierto cuando existe alta prevalencia de infección en población asintomática.¹⁵

Es difícil explicar por qué tan pocos individuos desarrollan una de estas afecciones gastroduodenales si la infección por HP es tan frecuente. Es posible que existan cepas de HP más ulcerogénicas que otras, o que todas las cepas de HP tengan igual potencial ulcerogénico y que el efecto final de la infección dependa de la densidad local de la cepa y/o de otros factores del huésped, incluyendo las características de la respuesta inflamatoria inducida por la bacteria.¹⁶ En un estudio realizado en Chile, el 82 % de 37 adultos asintomáticos con endoscopia normal eran portadores de HP en la mucosa gástrica antral, lo que sugiere una alta prevalencia de infección por HP en población asintomática.¹⁷ Estos resultados se parecen mucho a los reportados por nosotros en este estudio, donde el 83 % de los pacientes con endoscopia normal, estaban infectados con HP. La relación, demostrada en una población peruana,¹⁸ entre el riesgo de infección y la fuente de origen del agua para beber, el reciente aislamiento de HP en deposiciones,¹⁹ la aglomeración intrafamiliar y la aparente correlación, demostrada en población chilena, entre el riesgo de infección y el consumo de vegetales crudos²⁰ sugieren fuertemente una transmisión fecal-oral.

Se concluyó que el sistema PCR empleado constituye una herramienta eficaz para el diagnóstico de HP. La infección por HP presenta alta prevalencia en la muestra poblacional estudiada (95,7 %). Encontramos una relación de asociación de la presencia cepas de HP con el desarrollo de UG, UD y GC, pero no podemos definir el papel de esta infección en los pacientes dispépticos por lo que recomendamos profundizar este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Correa P. Is gastric carcinoma an infectious disease? N Engl J Med. 1991;325:1170-1.
2. Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection: Some fundamental questions. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1993;5:60-3.
3. Roosendal REJ, Kuipers AJC, Van der Brule NAS, Peña AM, Uytterlinde JMM, Walboomers SGM, et al. Importance of the fiberoptic endoscope cleaning procedure for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens by PCR. J Clin Microbiol. 1994;32:1123-6.
4. Kawamata O, Yoshida H, Hirota K, Yoshida A, Kawaguchi R, Shiratori Y et al. Nested-Polymerase Chain Reaction for the detection of *Helicobacter pylori* infection with novel primers designed by sequence analysis of Urease A gene in clinically isolated bacterial strains. Bioch Biophys Res Comm. 1996;219(1):266.
5. Alper J. Ulcers as an infectious disease. Science. 1993;260:159-60.

6. González-Carbajal M, Ospina Camacho A, Sandoval Ferre J, Castellanos Fernández M, Ávalos García R. Influencia de la ingestión de bebidas alcohólicas y del *Helicobacter pylori* en la gastritis crónica de pacientes alcohólicos. Rev Panam Infectol. 2004;6(3):13-8.
7. Grá Oramas B, Samada M, Hernández M, Segura N. ¿Es diferente la gastritis crónica antral por *Helicobacter pylori* en enfermos con y sin úlcera duodenal? VI congreso virtual de anatomía patológica. Cuba. Marzo del 2004. Disponible en: <http://conganat.sld.cu/autores/trabajos/T130/index.html>
8. González-Carbajal M, Rojas Zurita F, Grá Oramas B, Ávalos García R. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos. Rev Panam Infectol. 2004;6(4):8-14.
9. Gámez Escalona M, Mulet Pérez AM, Borrero Cobas J. Gastritis crónica antral por *Helicobacter pylori*. Correo Científico Médico de Holguín 2005;9(2): Disponible en: <http://www.cocmed.sld.cu/no92/ind92.htm>
10. Figueroa G, Acuña R, Jashes M, Troncoso M, Toledo MS, Arellano L. Respuesta de anticuerpos IgG en pacientes colonizados por *Helicobacter pylori*. Rev Med Chile. 1990;118:1195-200.
11. Moss S, Meyer-Wyss B, Renner EL, Merki HS, Gamboni G, Beglinger C. Influence of *Helicobacter pylori*, sex and age on serum gastrin and pepsinogen concentration in subjects without symptoms and patients with duodenal ulcers. Gut. 1993;34:752-6.
12. Brizuela Quintanilla R, Fábregas Rodríguez C, Angulo Pérez O, Pérez Lorenzo M, García González E, Díaz García M. *Helicobacter pylori* y enfermedad ulcerosa. Rev Cubana Med Mil; 28(1):5-8.
13. Total Chile Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile 1994;23:130-5.
14. Alper J. Ulcers as an Infectious Disease. Science. 1993;260:159-60.
15. Moss S, Calam J. *Helicobacter pylori* and peptic ulcers: the present position. Gut. 1992;33:289-92.
16. Rollán Rodríguez A. *Helicobacter pylori* y úlcera péptica. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2001;13:1235-9.
17. Hopkins RJ, Vial PA, Ferreccio C, Ovalle J, Prado P, Sotomayor V et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: Vegetables may serve as one route of transmission. J Infect Dis. 1993;168:222-6.
18. Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian Children. Lancet. 1991;337:1503.
19. Thomas JE, Gibson G, Darboe MK, Dale A, Weaver LT. Isolation of *Helicobacter pylori* from human feces. Lancet 1992;340:1194-1195.
20. Lee A, Fox JG, Otto G, Hegedus-Dick E, Krakowka S. Transmission of *Helicobacter* spp.: A Challenge to the Dogma of Faecal-Oral Spread. Epidemiol Infect. 1991;107:99-109.

Recibido: 25 de marzo de 2008.
 Aprobado: 22 de agosto de 2008.

Dra. *María Teresa Martínez Echavarría*. Estrada Palma No. 673 (3) esquina a Goss. Santos Suárez, 10 de Octubre, Ciudad de La Habana, Cuba. CP 10 500. Correo electrónico: mtemtnez@infomed.sld.cu

Tabla 1. Descripción de los cebadores del sistema ure A

Cebador	Secuencia (5'→3')	Descripción
HPA 1	ATA TTA TGG AAG AAG CGA GAG	Senso, primer proceso
HPA 2	CAT GAA GTG GGT ATT GAA G	Senso, segundo proceso
HPA 3	ATG GAA GTG TGA GCC GAT TT	Reverso, común en ambos procesos

Tabla 2. Incidencia de HP en los individuos estudiados, según la afección diagnosticada

Patología	N	Positividad a HP	
		No.	(%)
Gastritis crónica	24	22	(92)
Úlcera gástrica	12	12	(100)
Úlcera duodenal	27	27	(100)
Dispepsia (endoscopia normal)	6	5	(83)
Total	69	66	(95,7)