

Dos décadas de *Helicobacter pylori*

Felipe Cava¹ y Guillermo Cobas²

¹ Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España. E-mail: fcava@cbm.uam.es

² Centro de Estudios de Biotecnología Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba. E-mail:gcobas@cbm.uam.es

Las enfermedades bacterianas son generalmente consideradas como problemas sanitarios serios, sin embargo, pueden a menudo solucionarse mediante una simple terapia antibiótica. Mucho más complicada es la curación de enfermedades fúngicas y virales. Muchos cánceres se pueden curar si el diagnóstico es temprano, pero la mayoría tienen un remedio casi tan perjudicial como la misma enfermedad. Otras enfermedades como las autoinmunes o las que afectan el corazón, simplemente son controladas, tratando de paliar los síntomas con medicamentos normalmente muy costosos. Por tanto, tenemos que comprender la sorpresa de la comunidad médica, cuando una enfermedad por mucho tiempo pensada incurable aunque controlable, se vio que estaba causada por una bacteria. Más aún, cuando desde siempre se había pensado que el microambiente del estómago era demasiado extremo como para albergar vida microbiana. *Helicobacter pylori* es la principal responsable de la formación de úlceras en la población mundial. Su capacidad de colonización y adaptación a ambientes hostiles le ha permitido sobrevivir y crecer en las condiciones adversas que ofrece el estómago. En esta revisión se resumen brevemente aspectos importantes de la historia del descubrimiento de tan relevante microorganismo, así como algunas características moleculares y clínicas de la patología que causa.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, patógenesis, infección.

Introducción

Descubrimiento

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria espiral, microaerófila, gramnegativa, que se observa con terminales redondeados en biopsias gástricas (19).

Cuando es cultivada en medio sólido tiene forma de varilla y las formas espirales son infrecuentes o ausentes. Después de cultivo prolongado en medio sólido o líquido, las formas cocoides son las que predominan (4, 29, 45).

Por microscopía electrónica las formas cocoides aparecen como bacilos con forma de "U", con los extremos de los brazos unidos por una estructura membranosa. Las mismas son metabólicamente activas pero no se pueden cultivar *in vitro* (4, 29, 45).

Pudiera ser que las primeras observaciones de *H. pylori* se remontaran a más de un siglo de antigüedad, cuando Giulio Bizzozero describió bacterias en el estómago de perros sanos (41). Estos hechos quizás fueran el preludio del primer aislamiento de *H. pylori* en 1982 por Marshall y Warren. Estos investigadores nos adentraron en una nueva era de la microbiología gástrica, para la cual, el estómago debía dejar de entenderse como un órgano estéril sin flora

permanente. Había bacterias que en número considerable producían gastritis activa (49).

Aunque se han visto microorganismos en la capa mucosa gástrica en este siglo, el aislamiento de *H. pylori* junto con el aumento de interés en las patogénesis gastroduodenales ha supuesto un gran adelanto para la medicina.

En 1979, Robin Warren, un patólogo australiano de Perth, empezó a notificar una bacteria curvada a menudo presente en biopsias gástricas sometidas a exámenes histológicos. Este organismo no estaba presente en el epitelio gástrico pero sí en la capa mucosa que recubre el tejido. Warren descubrió que la mayoría de microorganismos similares encontrados y descritos en Europa en el siglo XIX habían sido ignorados por imposibilidad de aislamiento.

Datan los hechos de 1983, cuando J. Robin Warren escribió una publicación inédita a *The Lancet* donde exponía múltiples casos clínicos en los que aparecía una bacteria bacilar con forma espiral. Se la asociaba con gastritis crónica, gastritis activa crónica, inflamación... y en cualquier caso siempre acompañada de infiltración de polimorfonucleares al *antrum* humano (49, 50).

Un profesor de medicina interna llamado Barry Marshall estuvo interesado en las observaciones de Warren y juntos aislaron los microorganismos procedentes de esas biopsias utilizando métodos empleados con *Campylobacter*. El cultivo inicial de 30 pacientes fue negativo porque las *Campylobacter* crecían a 48 h y a los tres días tiraban las placas, hasta que por fortuna casual, una incubación se realizó durante cinco días y entonces se observaron colonias (6, 49).

Para la supervivencia de la bacteria era necesario un gradiente de pH desde el ácido lumen gástrico al pH neutro de los contornos mucosos. La bacteria crece en contacto íntimo con el epitelio, presumiblemente cerca del final neutro de este gradiente, protegida por el entorno mucoso.

Se aislaron por técnicas de *Campylobacter*, pero continuaban existiendo importantes diferencias para reseñar que se trataba de una nueva bacteria, ya que *Campylobacter* solo tiene de 1 a 2 flagelos polares sin envuelta, y comparada con el género *Spirillum* era más corta que una espiroqueta.

En 1984, Barry J. Marshall y J. Robin Warren escribieron juntos a *The Lancet*, para relatar que los bacilos curvados o espirales encontrados en 58 de 100 pacientes eran gramnegativos, flagelados y microaerófilos y se creía que se trataba de una nueva especie del género *Campylobacter*.

Era una bacteria espiral nunca cultivada antes, y su asociación con la gastritis activa crónica no se había descrito. Su morfología se parecía a *Campylobacter*, al igual que sus requerimientos atmosféricos y su composición de DNA. Pensaron que era temprano acuñarla *Campylobacter pyloridis* y la llamaron "pyloric campylobacter" (49, 50). Finalmente, este microorganismo es hoy conocido como *Helicobacter pylori*.

Marshall y Warren encontraron que la infección de *H. pylori* se asocia a ulceración duodenal y esta observación pronto se confirmó y extendió. Desde este instante y cuando se cumplen ya 30 años desde las primeras notificaciones de este microorganismo, otros muchos investigadores han confirmado su presencia en la mucosa gástrica.

En 1994, una conferencia consenso de los Institutos Nacionales de la Salud concluyó que *H. pylori* era la mayor causa de enfermedades de úlcera péptica (49, 50). Ese mismo año, la Agencia Internacional en

Investigación del Cáncer declaró a *H. pylori* como carcinógeno en humanos.

Helicobacter pylori ha sido relacionada con muchas lesiones del sistema digestivo, tanto benignas como malignas. En cualquier población, *H. pylori* es la máxima causante de tanto la úlcera gástrica como duodenal (18).

Ha sido asociada, además, con el descubrimiento de linfomas gástricos non-Hodgkin's y con otros desórdenes linfoproliferativos, MALToma ((*Mucosal-Associated Lymphoid Tissue*) lymphoma), gastritis crónicas, úlcera péptica, adenoma y adenocarcinoma del colon, posibles adenocarcinomas pancreáticos, enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares, cutáneas... Sin embargo, el mecanismo detallado de como *H. pylori* causa la enfermedad continúa siendo incierto (1, 7, 9, 27, 51).

Discusión

Epidemiología y Transmisión

La infección con *H. pylori* continúa siendo una de las infecciones bacterianas más extendidas. Ha sido encontrada en estómagos humanos en todas las partes del mundo y no parecen existir reservorios de *H. pylori* fuera de estos, salvo en primates y gatos como excepciones particulares. La mayoría de las infecciones las adquieren los niños, por ello, la infancia es considerada como un factor de riesgo junto con el bajo nivel socio-económico (8, 26).

Existen tres rutas de transmisión descritas (8, 19):

1. Iatrogénica: Material en contacto con la mucosa gástrica de una persona es luego puesto en contacto con otra. La desinfección de material hospitalario cómo reducen los índices de transmisión. Los endoscopistas que no usan guantes, incrementan el riesgo de estar infectados.
2. Transmisión fecal-oral: Es quizás la más importante. Aunque es aislada de heces de niños infectados, los residuos fecales contaminan el agua que puede ser entonces la fuente de infección. Pero los microorganismos no han sido aislados del agua.
3. Transmisión oral-oral: Fue identificada en mujeres africanas que premasticaban alimentos para sus hijos. No hay asociación relacionada con transmisión sexual, si ocurre es infrecuente. La transmisión por aspiración del vómito es otra posibilidad no documentada.

Las infecciones por vía ambiental o a través de reservóros animales no pueden ser descartadas. De hecho, los perros y gatos sirven de reservóreo de *H. hellmanii*, que se asocia a *H. pylori* en la infección y produce casos de gastritis en humanos.

Patogénesis de la infección

Se dispone de evidencias de que la colonización de *H. pylori* induce inflamación gástrica. La ingestión voluntaria por dos humanos resultó en gastritis crónica. La erradicación de *H. pylori* por terapia antimicrobiana eliminaba la gastritis (36).

Se asocia a células de la mucosa gástrica pero no al epitelio intestinal. Se le relaciona comúnmente con gastritis crónica superficial que se caracteriza por infiltración de células mononucleares y neutrófilos en el epitelio.

A menudo suceden cambios degenerativos de la superficie epitelial incluyendo depleción de mucina, vacuolización citoplasmática y desorganización de las glándulas de mucus.

Antes de la erradicación de *H. pylori*, muchas de estas características desaparecen, sin embargo las células mononucleares persisten varios meses (35).

La respuesta inflamatoria a *H. pylori* en niños difiere de la de adultos. La endoscopia revela una superficie mucosa nodular o granular que microscópicamente corresponde a hiperplasia linfonodular, especialmente en el *antrum*. Tales agregados a menudo contienen centros germinales activados. La cantidad de neutrófilos puede ser mayor que la de adultos (36, 12).

Dinámica de infección de *Helicobacter pylori* en el estómago humano

Las superficies mucosas de vertebrados deben considerarse como estructuras en comunicación con el ambiente externo. Las bacterias que tienen contacto con ellas (tracto gastrointestinal) tienen tres impedimentos que limitan su número: peristalsis, competición microbiana y efectores inmune-específicos.

En contraste, *H. pylori* es un patógeno exógeno que a diferencia de la mayoría, persiste por décadas en el tracto gastrointestinal. *H. pylori* induce inflamación gástrica crónica que termina en úlcera péptica o neoplasia gástrica en gran número de personas (6).

La colonización muestra un modelo de versatilidad bacteriana por persistir a pesar de los contratiempos

físicos de la peristalsis. La adherencia bacteriana es una estrategia para resistir la peristalsis de la capa mucosa donde la mayoría de *H. pylori* residen, y de allí migran a las células epiteliales (19).

H. pylori supera la barrera ácida estomacal donde casi ningún microbio puede competir, y la respuesta inmune es esencialmente inefectiva.

Un *feedback* autorregulador ha sido propuesto como mecanismo de persistencia de *H. pylori* acompañado de un modelo matemático complejo (26, 27). *H. pylori* es de vida libre, muy móvil en la capa mucosa por encima del epitelio gástrico, en pequeña proporción, (1-5%) atacan a las células epiteliales (6).

El 98% reside en el mucus (reservóreo de las bacterias adherentes, transmisión), mientras que 2% se encuentran adheridas a células epiteliales (mantienen la infección). Por tanto, hay dos poblaciones, adherentes y no adherentes, con distintas características de supervivencia.

Para explicar el mecanismo mediante el cual *H. pylori* deriva su forma de nutrición del hospedador, ha sido propuesto un modelo en el cual estos organismos colonizantes inducen una respuesta inflamatoria en el hospedador. En este modelo la bacteria elabora efectores proinflamatorios que son adsorbidos por la mucosa, provocando la respuesta en el hospedador que conlleva un daño tisular con liberación de nutrientes. Esto es un *feedback* positivo y cíclico que parece favorable para *H. pylori* (5).

En un principio, la inflamación es un hecho favorable para el hospedador, pero cuando los microbios no son eliminados se convierte en un proceso deteriorante porque la infección no consigue ser erradicada (6).

Coherentemente, moléculas de la superficie de *H. pylori* como el lipopolisacárido (LPS) tienen baja actividad proinflamatoria. La respuesta celular contra *H. pylori* queda suprimida, y *H. pylori* regula la inflamación para evitar ser eliminado de su nicho (18, 19).

Proceso de daño tisular

H. pylori coloniza y persiste en un nicho único que es el lumen gástrico. Los determinantes patogénicos putativos de *H. pylori* se dividen en dos grupos: factores de virulencia que contribuyen a efectos patogénicos de la bacteria y factores de mantenimiento que permiten a la bacteria colonizar y permanecer en el hospedador (6, 12).

Los factores de virulencia se clasifican según sus efectos patogénicos en el hospedador: inflamación gástrica, rotura de la barrera de la mucosa gástrica y alteración de la fisiología gástrica. Muchos de los factores de *H. pylori* funcionan como factores de virulencia y mantenimiento *in vivo* (11, 12).

Inducción de la inflamación gástrica

Gastritis superficial caracterizada por infiltración en la mucosa gástrica de leucocitos polimorfonucleares o células monocíticas. La inflamación es importante para la supervivencia de *H. pylori in vivo* (12).

1. Interleuquina 8 (IL-8): es una quimioquina o pequeño péptido secretado por un número variable de células, es un potente mediador inflamatorio que recluta y activa neutrófilos. *H. pylori* induce secreción de IL-8 de células de carcinoma gástrico *in vitro* (14).
2. Adherencia de neutrófilos: el gen *nap A* muestra homología con el gen de la familia de proteínas de bacterioferritina y codifica la proteína HP-NAP. Esta proteína es un polímero de 10 subunidades que incrementa la expresión de neutrófilos CD11b/CD18 y la adherencia de estos a células endoteliales (21).
3. Factor activador plaquetario (PAF): es un mediador fosfolipídico reconocido como potente agente ulcerogénico. Lyso-PAF es producido por células de la mucosa gástrica en condiciones basales y en respuesta a gastrina en personas saludables. PAF estimula la secreción de ácido gástrico a través de receptores específicos de células parietales. *H. pylori* metaboliza el precursor no ulcerogénico lyso-PAF a PAF. Por ello, a través de la síntesis del PAF, *H. pylori* induce daños en la mucosa directa o indirectamente por incremento de la secreción de ácido (44).
4. Lipopolisacárido (LPS): el LPS de *H. pylori* rompe el mucus gástrico interfiriendo con la interacción entre la mucina y su receptor. Sin embargo, el LPS de *H. pylori* tiene menor capacidad proinflamatoria (38).
5. Ureasa: es un potente estimulante de activación para fagocitos mononucleares y la producción de citoquinas inflamatorias. *In vitro*, su actividad es tóxica para células del epitelio gástrico. Funciona como colonizador (factores de mantenimiento) y factor de virulencia (6, 18).

Ruptura de la barrera mucosa

H. pylori inhibe la respuesta secretora de las células mucosas *in vitro*, indicando el efecto potencial de deterioro en este mecanismo principal de defensa de la mucosa gástrica.

1. Fosfolipasa: *H. pylori* destruye la capa rica en fosfolípidos con función protectora. Más aún, los cambios pueden ser inducidos en capas fosfolipídicas *in vitro* por fosfolipasas A2 y C expresadas en *H. pylori* (40).
2. Mucinasa: *H. pylori* posee un gen idéntico casi al de la mucinasa de *Vibrio cholerae*. Esta actividad mucinasa *in vitro* contribuiría a la ruptura de la barrera mucosa gástrica (43).
3. Citotoxinas: Estas inducen vacuolas ácidas en el citoplasma de células eucariotas. Casi simultáneamente, cuatro grupos dieron con el clonaje y secuencia de *vac A* (3.9 Kb) que codifica a una citotoxina vacuolante. El gen *vac A* codifica a una proteína de 134KD, protoxina que contiene una secuencia *leader* de 33 aminoácidos y un fragmento carboxilo terminal de ~ 50 KD que presenta homología con el carboxilo terminal del precursor de la proteasa de IgA de *Neisseria gonorrhoeae*, y que parece estar implicado en la translocación de la proteasa a la membrana externa. Por analogía, el carboxilo terminal de la protoxina de *H. pylori* puede jugar un papel en la secreción de la citotoxina. Mutantes en *vac A* no expresan la citotoxina y pierden la actividad vacuolante (1, 13).
4. Especies de oxígeno reactivas: *H. pylori* induce la síntesis de "Reactive oxygen species" (ROS) en la mucosa gástrica *in vivo*. Hay asociación positiva entre ROS, la carga infectiva de *H. pylori* y el daño en mucosa gástrica. Muchas drogas anti-úlceras funcionan como "secuestradores" de ROS, ayudando a explicar cómo minimizan el daño en la mucosa inducido por *H. pylori*. *H. pylori* estimula la producción de ROS *in vitro* e *in vivo* (16).
5. Sintasa inducible de óxido nítrico (iNOS): *H. pylori* induce iNOS y macrófagos *in vitro*. La alta producción de óxido nítrico por la inducción de esta sintasa, en asociación con la activación inmune, es responsable de daño tisular (32).
6. Apoptosis: *H. pylori* aparece para inducir la muerte celular programada de las células del epitelio gástrico y para estimular daño oxidativo de DNA en mucosa gástrica humana infectada. *H. pylori* parece

inhibir la migración y proliferación de células del epitelio gástrico, por lo que el daño en la mucosa gástrica puede ser inducido directa o indirectamente (32, 37).

La infección reversible de *H. pylori* induce la expresión del péptido gastrina, estimulante de ácidos, y suprime la expresión de la hormona somatostatina que es inhibidora de ácidos.

Estos efectos no se deben a *H. pylori per se*, pero sí al grado de inflamación gástrica presente.

1. Motilidad: Es un factor de colonización esencial. Normalmente *H. pylori* contiene de 2 a 6 flagelos polares, cuyos filamentos son de dos tipos codificados por *fla A* y *fla B*, siendo ambos genes necesarios para la movilidad.

La cubierta flagelar es una estructura membranosa que contiene proteínas y lipopolisacárido similar a los componentes de la membrana externa, sin embargo, la función es incierta (35).

2. Ureasa: Es un factor esencial de colonización. Mutantes en ureasa no colonizan cerdos incluso si estos tienen un nivel normal de ácidos.

Parece ser que la actividad ureasa se requiere para la producción de un microambiente neutral para el organismo en el lumen gástrico. Hay evidencias considerables de la asociación de ureasa a la membrana externa de *H. pylori*, aunque algo de actividad también se detecta en el citoplasma sugiriendo un papel en la asimilación de nitrógeno orgánico. La asociación de la ureasa con la superficie es estabilizada por iones calcio y magnesio, aunque otros cationes pueden inhibir la actividad de la enzima.

La ureasa recombinante es expresada óptimamente cuando la utilización de Ni^{2+} no es inhibido *in vitro* y cuando la síntesis de Ure A y Ure B es suficientemente permitida.

Una proteína transportadora de alta afinidad por níquel (*Nix A*) permite el transporte a bajas concentraciones de este metal y es necesario para la completa actividad de la ureasa de *H. pylori*. Sin embargo, mutantes en *nix A* muestran actividad ureasa aunque a niveles bajos frente a las que si tienen actividad ureasa (34).

3. Catalasa y superóxido dismutasa: Son genes homólogos a microorganismos patógenos

intracelulares, sugiriendo el papel de resistencia a morir por leucocitos polimorfonucleares.

Una pequeña fracción de catalasa y superóxido dismutasa se asocian a la superficie de *H. pylori* y es esencial para la protección frente a muerte dependiente de O_2 por los neutrófilos (39, 46).

4. Proteínas homólogas a proteínas de choque térmico: El gen *hsp B* es parte de un operón bicistrónico (*hsp A-hsp B*), que ha sido clonado y secuenciado. El *hsp A* está corriente arriba del *hsp B*, codifica para una proteína de *H. pylori* homólogo a GroES, y contiene sitios de unión a níquel en el carboxilo terminal.

Hsp A juega un papel en la integración de níquel en la molécula de ureasa funcional mientras que Hsp B funciona como una chaperona molecular de la ureasa.

La expresión conjunta de *hsp A* y *hsp B* en *H. pylori* incrementa la actividad de ureasa mediante complementación funcional (47).

5. ATPasa tipo P: Las ATPasas son dianas de muchos bactericidas e inhibidores de bombas de protones como iansoprazol y omeprazol en *H. pylori*.

Existen mutantes sensibles al omeprazol por lo que los últimos resultados apoyan la idea de que la ATPasa no sea una diana específica de este antibiótico (23).

6. Sideróforos: El hierro es elemento esencial para el crecimiento y metabolismo bacteriano de *H. pylori*. Hoy, después de los estudios contradictorios de Husson y colaboradores, y posteriormente de Illingworth, se continúa sin aclarar como *H. pylori* toma hierro para su crecimiento, es decir, si usan la lactoferrina humana y receptores bacterianos en la membrana de *H. pylori* para lactoferrina o si bien *H. pylori* tiene proteínas de unión a hierro o sideróforos (24, 25).

Adhesinas y receptores celulares

H. pylori se adhiere a receptores del epitelio gástrico por adhesinas específicas. Sin embargo, la identificación definitiva de adhesinas bacterianas ha sido complicada por la observación de que varias proteínas citoplasmáticas tienden a asociarse con la superficie de *H. pylori* durante su cultivo en agar.

H. pylori aglutina eritrocitos animales. Se ha investigado la hemaglutinina de *H. pylori* y la

contribución a su adherencia *in vivo*. La habilidad de esta cepa a adherirse a diferentes líneas celulares se relaciona con su capacidad de producir aglutinación de eritrocitos.

Distintos tipos de *H. pylori* expresan distintas adhesinas. Una adhesina específica de ácido siálico con propiedades similares a lectina es expresada en una baja proporción en cepas que aglutinan pobremente y en mayor proporción en los que aglutinan fuertemente.

Las hemagglutininas solas no explican la adherencia *in vivo*, desde que algunos estudios han fracasado en demostrar la correlación entre títulos de hemagglutinina de las cepas de *H. pylori* y su habilidad para adherirse a células del epitelio gástrico de humanos o animales.

Una línea de *H. pylori* específica de unión a la superficie parece indicar mediación de estructuras fucosiladas y glicoproteínas pero no de moléculas de ácido siálico. La capacidad de tales receptores fucosilados es reducida con grupos sanguíneos A y B comparados con grupos sanguíneos O, explicando el alto riesgo de úlcera péptica en individuos de grupo O.

Otros potenciales receptores de *H. pylori* incluyen componentes de matriz extracelular que pudieran estar expuestos después del daño al epitelio gástrico. *In vitro*, cepas de *H. pylori* se unen a laminina, fibronectina, varios colágenos y heparán sulfato.

Basado en evidencia serológica, la capa externa de polisacárido presente en la superficie de *H. pylori* juega un papel en la adherencia (18, 12, 13).

Evasión inmune

Aunque *H. pylori* estimula al sistema inmune a que produzca anticuerpos, parece haber actividad supresiva o depresiva de la respuesta celular inmune que posiblemente es mediada por una proteína (2).

Hemagglutininas específicas de ácido siálico en la superficie de la mucosa retrasan la adhesión e ingestión de *H. pylori*. La expresión de antígenos de Lewis en la superficie de *H. pylori* pueden camuflar a la bacteria entre los antígenos de la mucosa gástrica.

Otro mecanismo potencial de evasión inmune exhibido por *H. pylori* puede ser la modificación de morfología bacteriana. Las formas bacilares se convierten en cocoides después de cultivos prolongados (26, 27).

La morfología, fisiología y bioquímica de las formas cocoides han sido descritas por una gran variedad de

investigadores pero su significado en la infección aún es desconocido (4, 29, 45).

Diagnóstico de la infección

Examen histológico de tejido gástrico, cultivo bacteriano, test rápido de ureasa, uso de sondas de DNA y análisis por PCR, endoscopia, serología, test de respiración, PCR de jugo gástrico, excreción urinaria de N15 amonio son no invasivas y no requieren de endoscopia.

Métodos que requieren de endoscopia (3, 48, 15, 30, 31)

1. Cultivo: Tiene dos ventajas principales, primero permite un test de susceptibilidad antimicrobiana, y segundo, los aislados en cultivo permiten ser caracterizados en detalle.
2. Valoración histológica: Visualización con hematoxilina & eosina (H&E). La bacteria se localiza en el mucus adherido a la superficie del epitelio y a menudo se encuentran profundas en criptas. Sin embargo, la tinción de H&E no es fiable cuando hay pocas bacterias presentes. La identificación histológica de la bacteria está facilitada por tinciones como Warthin-Starry y Giemsa modificado. La distribución de *H. pylori* por el estómago no es uniforme. También son muy útiles las inmunohistoquímicas cuando la tinción no es suficiente.
3. Test de ureasa en biopsia: Son métodos de detección indirecta del organismo en biopsia gástrica. La sensibilidad de estos tests depende de la carga bacteriana en el estómago. El CLOtest fue el primero comercializado y diseñado específicamente para *H. pylori*. Consistía en gel de agar + rojo fenol + urea; en presencia de ureasa, la urea es hidrolizada y el pH cambia y sirve de indicador por su viraje de color. El test era interpretado después de 24 horas y era conocido como "*rapid urea test*".
4. PCR: Ofrece una gran promesa en cuanto a especificidad y sensibilidad para la detección de *H. pylori* en biopsias. Hay que elegir cebadores y DNA molde, preparación de la muestra, densidad bacteriana... Li y colaboradores, revelaron un ensayo del 100% de seguridad para la detección de *H. pylori* en biopsias de mucosa gástrica. Pero sigue siendo menos fiable que la tinción inmunohistológica. La ventaja de la PCR es que permite el diagnóstico de *H. pylori* de forma no

invasiva en fluido no gástrico como la saliva. Lo cual llevó a predecir que la cavidad oral es el lugar inicial de infección, la colonización del estómago no es una consecuencia necesaria de la infección oral. Aunque han existido casos de detección de *H. pylori* en saliva incluso sin poder ser detectada en el estómago. Otros investigadores no han podido detectarla en saliva incluso en pacientes con infección gástrica. No debemos descuidar las posibilidades de obtener falsos positivos, lo cual fue observado al usar cebadores para amplificar un fragmento de 109bp del gen 16S rRNA de *H. pylori* obteniendo una amplia variedad de tejidos infectados por *H. pylori* en individuos no infectados, demostrando que el producto de PCR resultaba de amplificación del genoma humano.

Métodos no endoscópicos

1. Detección de anticuerpos: La infección de la mucosa gástrica por *H. pylori* resulta en respuesta sistémica o inmune, incluyendo la elevación de niveles en suero de IgG e IgA y niveles en el estómago de IgA e IgM permitiendo realizar tests serológicos de la bacteria. Son tests no invasivos, rápidos, sencillos y más económicos que los que requieren de una endoscopia de biopsia. Aunque pueden ser enmascarados por componentes de bismuto, inhibidores de bomba de protones o antibióticos que impiden que aumente la carga bacteriana. El método depende principalmente de la preparación de antígeno usado; en general se usan tres tipos de antígeno: antígenos crudos como células enteras o células sonicadas, fracciones celulares, antígenos termoestables y antígenos enriquecidos en ureasa y antígeno de 120 KD. Los tests que usan los tres tipos dan sensibilidad y especificidad de 95%. Después de la erradicación de *H. pylori*, la IgG, IgA tienden a bajar. Bajos niveles de IgG tienden a persistir durante meses incluso después de la erradicación de *H. pylori*, por ello existen ligeros inconvenientes en los tests serológicos a menos que el suero tras el tratamiento y el suero antes del tratamiento puedan ser comparados (42).
2. Urea breath tests (UBTs): Es similar a los tests de ureasa. La urea es sustrato de la ureasa que la hidroliza en bicarbonato que es exhalado como CO₂ marcado y es recogido y testado (contador de centelleo para C¹⁴, espectrometría de masas para C¹³) (28).

3. Otros ensayos: Tomas de sangre y orina para medir sustratos metabólicos de *H. pylori*.

Tratamiento

H. pylori in vitro es susceptible a penicilina, algunas cefalosporinas, macrólidos, tetraciclinas, nitroimidazoles, nitrofuranos, quinolonas, sales de bismuto e inhibidores de bomba de protones (PPIs).

Son intrínsecamente resistentes a bloqueantes de receptores (cimetidina y ranitidina), polimixina y trimetoprim.

Un gran resultado son las triples terapias basadas en la combinación de PPI, bismuto, tetraciclina y metronidazol (6, 18), o la combinación de RBC (ranitidine bismuth citrate) con otros dos antibióticos. Estas terapias triples conceden un mayor porcentaje de éxito frente a la rápida emergencia de multiresistencias microbiológicas.

Últimos resultados recomiendan empíricamente una terapia cuádruple que incluye furazolidona o rifabutina (9, 33).

Se ha probado vacunación en gran variedad de animales empleando antígenos de *H. pylori* en combinación con adyuvantes de mucosa como la toxina colérica y la enterotoxina termolabil de *E. coli*. En animales, una gran variedad de inmunógenos confieren protección contra la infección bacteriana o permiten la erradicación de la infección de *H. pylori* (inmunización terapéutica). Tales inmunógenos incluyen bacterias sonicadas, holoenzima de ureasa purificada, Vac A purificada y GroEL (HspB) y GroES (HspA) (22).

Es sorprendente que proteínas de choque térmico o incluso la ureasa, que se localizan estrictamente en el citoplasma de patógenos entéricos, sirva como vacuna efectiva contra *Helicobacter spp.*

Para entender esta paradoja, se ha demostrado que la ureasa y hsp se localizan en el citoplasma en la fase logarítmica de crecimiento, pero se asocian a la superficie de *H. pylori* cuando se produce lisis bacteriana *in vitro* y en biopsias gástricas, sugiriendo que la autólisis bacteriana lidera la adsorción de estas proteínas *in vivo* (20).

In vitro, la ureasa citoplasmática no es suficiente para proteger a la bacteria de los efectos de deterioro del pH ácido. Solo cuando la ureasa se asocia a la membrana, la bacteria queda totalmente protegida.

También se están usando vacunas de DNA desnudo de *ure B*, disminuyendo el nivel de infección de *H. felis* en ratón (10).

Conclusión

Cuando se cumple la segunda década desde los primeros estudios de Robin Warren y Barry Marshall, que relacionaban a *Campilobacter pylori* con la úlcera péptica, *Helicobacter pylori* sigue siendo motivo de estudio como prerrequisito para entender las úlceras gástricas y duodenales entre otras patologías del sistema digestivo.

Las características de *H. pylori* lo hacen francamente atractivo al investigador. Es un patógeno no invasivo pero que coloniza las superficies de la mucosa gástrica, donde la respuesta del hospedador produce inflamación y es por ello el máximo responsable de gastroenteritis, úlceras pépticas, adenocarcinoma estomacal y gastritis crónica entre otras. A pesar de todo, todavía no se ha establecido de manera inequívoca, la relación de causa entre *H. pylori* y las úlceras

En los individuos infectados, habitualmente están presentes anticuerpos frente a *H. pylori*, pero no evitan la colonización. Por ello los individuos que adquieren *H. pylori* tienden a padecer enfermedades crónicas.

Las úlceras se tratan como enfermedades infecciosas y con frecuencia se logran curaciones permanentes. Habitualmente, el tratamiento consiste en una combinación de fármacos que comprende metronidazol, un segundo antibiótico como la tetraciclina y una preparación de antiácido que contiene bismuto (Bismuth-based triple therapy). Sin embargo nuevos tratamientos basados en terapias triples y cuádruples se están desarrollando con éxito y abren nuevas perspectivas en la particular lucha de la comunidad médica frente a *Helicobacter pylori*.

Referencias

1. Akopyants NS, Kersulyte D, and Berg DE. *CagII*, a new multigene locus associated with virulence in *Helicobacter pylori*. *Gut*. 1995;36:A1.
2. Appelmelk B J. et al. Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. *Infection and Immunity*. 1996; 64:2031-2040.
3. Ashton-Key M, Diss TC, y Isaacson PG. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy and resection specimens. *Journal of Clinical Pathology*. 1996; 49:107-111.
4. Benaissa M, et al. Changes in *Helicobacter* ultrastructure and antigens during conversion from the bacillary to the coccoid form. *Infection and Immunity*. 1996; 64:2331-2335.
5. Berg D E, Hoffman P S, Appelmelk BJ y Kusters JG. The *Helicobacter pylori* genome sequence: genetic factors for long life in the gastric mucosa. *Trends in Microbiology*. 1997; 5(12):468-474.
6. Blaser MJ. The bacteria behind ulcers. *Scientific American*. 1996; Feb:92-97.
7. Boot H y Jong D. Gastric lymphoma: the revolution of the past decade. *Scandinavian Journal of Gastroenterology Supplement*. 2002; 236:27-36.
8. Cave DR. How is *Helicobacter pylori* transmitted?. *Gastroenterology*.1997; 113:S9-S14.
9. Chan FK y Leung WK. Peptic-ulcer disease. *Lancet*. 2002; 360(9337):933-941.
10. Cortesy-Theulaz IB, et al. Naked DNA immunization against *Helicobacter* infection. *Gastroenterology*. 1996; 110:A889.
11. Covacci A y Rappuoli R. *Helicobacter pylori*: molecular evolution of a bacterial quasi-species. *Current opinion in Microbiology*. 1998; 1:96-102.
12. Covacci A, Falkow S, Berg DE y Rappuoli R. Did the inheritance of a pathogenicity island modify the virulence of *Helicobacter pylori*?. *Trends in microbiology*. 1997; 5(5): 205-208.
13. Cover TL. An intracellular target for *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. *Trends in microbiology*. 1998; 6(4):127-129.
14. Crabtree JE. et al. *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with *cag A* positive phenotype. *Journal of Clinical Pathology*. 1995; 48:41-45.
15. Cutler A. et al. Accuracy of invasive and noninvasive test to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*. 1995; 109:136-141.
16. Davies GR. et al. Relationship between infective load of *Helicobacter pylori* and reactive oxygen metabolite production in antral mucosa. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1994; 29:419-424.
17. Devreker T, McNulty CAM, Uff JC, Wilkinson SP y Gear MWL. New spiral bacterium in gastric mucosa. *Lancet*. 1987; ii:96.
18. Dorrell N, Crabtree JE y Wren B. W. Host-bacterial interactions and the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Trends in microbiology*. 1998; 6(10):379-383.
19. Dunn B. E, Cohen H y Blaser M. *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*. 1997:720-741.

20. Dunn B E. et al. Localization of *Helicobacter pylori* urease and heat shock protein homolog in human gastric biopsies. *Infection and Immunity*. 1997; 65:1181-1188.
21. Evans DJ. Jr, et al. Characterization of a *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein. *Infection and Immunity*. 1995; 63:2213-2220.
22. Ferrero RL, et al. The GroES homolog of *Helicobacter pylori* confers protective immunity against mucosal infection in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1995; 92:6499-6503.
23. Ge Z, Hiratsuka K y Taylor DE. Nucleotide sequence and mutational analysis indicate that two *Helicobacter pylori* genes encode a p-type ATPase and a cation-binding protein associated with copper transport. *Molecular Microbiology*. 1995; 15:97-106.
24. Husson MO, Legrand D, Spik G y Leclerc H. Iron acquisition by *Helicobacter pylori*: importance of human lactoferrin. *Infection and Immunity*. 1993; 61:2694-2697.
25. Illingworth DS, Walter KS, Griffiths PL, y Barclay R. Siderophore production and iron-regulated envelope proteins of *Helicobacter pylori*. *Int Journal of Medical Microbiology Virology Parasitology Infection Diseases*. 1993; 280:113-119.
26. Kirschner DE y Blaser M. The dynamics of *Helicobacter pylori* colonization in relation to the host response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999; 96:8359-8364.
27. Kirschner DE y Blaser M. The dynamics of *Helicobacter pylori* infection of the human stomach. *Journal of Theoretical Biology*. 1995; 176:281-290.
28. Koletzko S, et al. Isotope-selective non-dispersive infrared spectroscopy for detection of *Helicobacter pylori* infection with ¹³C-urea breath test. *Lancet*. 1995; 345:961-962.
29. Kusters JG, Gerrits MM, Van Strijp JAG y Vandenbroucke-Grauls CMJE. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. *Infection and Immunity*. 1997; 3672-3679.
30. Lage AP, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of cag A gene in gastric biopsy specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 1995; 33:2752-2756.
31. Li C F. et al. A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of *H. pylori* in saliva supports oral transmission. *Digestive Diseases and Sciences*. 1996; 41:2142-2149.
32. Mannick EE, et al. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine and apoptosis y *Helicobacter pylori* gastritis: effect of antibiotics and antioxidants. *Cancer Research*. 1993. 56:3238-3243.
33. Misiewicz JJ, Harris AW, Bardhan KD, y Longworthy H. One week low dose triple therapy for eradication of *H. pylori*. A large multicentre randomized trial. *Gastroenterology*. 1996; 110:A198.
34. Mobley H. L, Island M. D, y Hausinger R. P. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological reviews*. 1995; 59:451-480.
35. Moran A. P. Pathogenesis of gastric *Helicobacter pylori*. *Trends in Microbiology*. 1997; 5(7): 262-265.
36. Morris A y Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised gastric pH. *American Journal of Gastroenterology*. 1987. 82:192-199.
37. Moss S F, Calam J, Agarwal B, Wang S y Holt PR. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. *Gut*. 1996; 38:498-501.
38. Muotiala A, Helander IM, Pyhala L, Kosunen TU, y Moran AP. Low biological activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infection and Immunity*. 1992; 60:1714-1716.
39. Odenbriet S, Wieland B y Haas R. Cloning and genetic characterization of *Helicobacter pylori* catalase and construction of a catalase-deficient mutant strain. *Journal of Bacteriology*. 1996. 178:6960-6967.
40. Ottlecz A, Romero J. J, Hazell S. L, Graham D. Y, y Lichtenberger L. M. Phospholipase activity of *Helicobacter pylori* and its inhibition by bismuth salts. *Digestive Diseases and Sciences*. 1993. 38:2071-2080.
41. Pareti G, Cerletti y Gaetano G. How old is *Helicobacter pylori*? *Lancet*. 2002; 359(9318):1700-1701.
42. Perez-Perez GI, Dworkin BM, Chodos J E and Blaser MJ. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Annals of Internal Medicine*. 1988; 109:11-17.
43. Smith AW, Chahal B, y French GL. The human gastric pathogen *Helicobacter pylori* has a gene encoding an enzyme first classified as a mucinase in *Vibrio cholerae*. *Molecular Microbiology*. 1994;13:153-160.
44. Sobhani I. et al. *Helicobacter pylori* stimulates gastric acid secretion via platelet activating factor. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 1992. 47:177-185.
45. Sörberg, M, Nilsson M, Hanberger H y Nilsson LE. Morphologic conversion of *Helicobacter pylori* from bacillary to coccoid form. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1996; 15:216-219.
46. Spiegelhalter C, Gerstenecker B, Kersten A, Schiltz E y Kist M. Purification of *Helicobacter pylori* superoxide dismutase and cloning and sequencing of the gene. *Infection and Immunity*. 1993; 61:5315-5325.

47. Suerbaum S, Thiberge JM, Kansau I, Ferrero RL y Labigne A. *Helicobacter pylori hspA-hspB* heat shock gene cluster: nucleotide sequence, expression, putative function and immunogenicity. *Molecular Microbiology*. 1994; 14:959-974.
48. Thomas JE, Gibson GR, Darboe MK, Dale A y Weaver LT. Isolation of *Helicobacter pylori* from Human faeces. *Lancet*. 1992; 340:1194-1195.
49. Warren R y Marshall B. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984; June 16:1311-1314.
50. Warren R y Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983; June 4:1273-1275.
51. Wu ML y Lewin KJ. Understanding *Helicobacter pylori*. *Human pathology*. 2001; Mar. 32(3):247-249.

Two decades of *Helicobacter pylori*

Abstract

Bacterial diseases are generally considered as serious sanitary problems. However, they can often be eradicated by using an antibiotic therapy. The healing of fungal and viral diseases is much more complicated. Many cancers can be cured if there is an early diagnosis, but the treatment of most of them is almost as harmful as the disease itself. Other diseases, such as the autoimmune and heart diseases are simply controlled by trying to palliate the symptoms with very expensive medicine. That's why we must understand the astonishment of the medical community when a disease, long time considered incurable, although controllable, was found to be caused by a bacterium. This was even more so, because the stomach's environment was considered too extreme to harbor any microbial life. *Helicobacter pylori* is the main agent of ulcer formation in the world population. Its colonization capacity and adaptability to hostile environments have allowed it to survive and grow in the harsh conditions of the stomach. In this review we briefly examine important aspects of the history of the discovery of such a relevant microorganism, as well as some molecular and clinical features of the pathology it produces.

Keywords: *Helicobacter pylori*, pathogenesis, infection.