

Relación de la genotipificación de *Helicobacter pylori* con la forma e intensidad de la gastritis en población adulta portadora de patología gástrica benigna

Juan Carlos Araya O, Leonardo Anabalón R, Iván Roa E, María Bravo E, Miguel Ángel Villaseca H, Pablo Guzmán G, Juan Carlos Roa S.

Association between helicobacter pylori genotype and the severity of gastritis in infected adults

Background: The damaging capacity of *Helicobacter pylori* is variable and depends, in part, on its genetic polymorphism. **Aim:** To study *H pylori* genes *vacA*, *cagA* and *iceA* and the relationship of these genotypes with the features of acute damage in chronic gastritis. **Material and methods:** Gastric endoscopic biopsies were obtained in 75 adults for pathological study and genetic typification of *H pylori* by specific PCR. **Results:** In only 64 cases, complete information was available. In 53 of these, there was *H pylori* infection demonstrated by PCR. Twenty one percent had infection by two or more *H pylori* strains, *vacA* gene had genotypes *s2/m2*, *s1/m1* and *s1/m2* in 36, 25 and 8% of cases respectively, *cagA* gene was present in 49% of infected patients. *iceA* gene had genotypes *iceA 1* and *iceA 2* in 15 and 60% of patients respectively. The presence of *cagA* or alleles *s1/m1* and *s1/m2* of *vacA* gene was directly correlated with polymorphonuclear infiltration and the severity of epithelial damage. The genotype *s2/m2* of *vacA* gene was significantly associated with a milder or absent mucosal damage. No association was found between *iceA* alleles and the pathological features of gastritis. **Conclusions:** Alleles of *vacA* and *cagA* genes of *H pylori* are associated with the severity of gastric mucosal damage (Rev Méd Chile 2004; 132: 1345-13).
(Key Words: Gastritis; Genes, bacterial; *Helicobacter pylori*)

Recibido el 10 de marzo, 2004. Aceptado en versión corregida el 17 de agosto, 2004.
Trabajo financiado por proyectos FONDECYT # 1020283 y DIUFRO # 2029.
Departamentos de Anatomía Patológica y de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Correspondencia a: Juan Carlos Araya O. Casilla 54-D, Temuco, Chile. Fono: 56-45-296528; Fax: 56-45-216273. E mail: jcaraya@ufro.cl.

En países en vías de desarrollo, la prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* alcanza cifras de aproximadamente 80-90% de la población total¹⁻³. No obstante, no más de 3% de estos individuos presentará, en algún momento de su vida, sintomatología o manifestaciones clínicas atribuibles a la infección, tales como úlcera péptica, cáncer gástrico o linfoma gástrico⁴. Estas evidencias contrastan con el viraje conceptual acerca de la capacidad patogénica, ya que en un principio a *H pylori* se le había considerado como un mero comensal⁵, pero desde su redescubrimiento, por Marshall y Warren⁶, a *H pylori* se le clasificó como parásito estricto.

La citotoxina vacuolizante *vacA* induce vacuolización citoplasmática en condiciones experimentales, tanto *in vitro* como *in vivo*. Aunque casi todas las cepas de *H pylori* poseen el gen que codifica esta proteína, sólo algunos son capaces de producirla^{2,7,8}, explicable por el particular mosaicismos de sus alelos. Otro factor patogénico de *H pylori* es una proteína de mayor peso molecular que la anterior, codificada por el gen *cagA*, expresado aproximadamente en 45% de las infecciones por *H pylori*². En este caso casi todas las cepas de *H pylori* que poseen este gen son capaces de producir y secretar tal citotoxina⁷. Finalmente, *iceA* es un gen descrito más recientemente, con dos formas alélicas distinguibles (1 y 2), que se expresaría cuando la bacteria toma contacto íntimo con las células epiteliales gástricas⁹.

Aún está pendiente la calibración completa del efecto poblacional en el riesgo de enfermedad diferencial, dado que la existencia o no de infestación y la presencia de diferentes alelos en *H pylori* no explican plenamente las diferentes tasas de enfermedad en base a la edad de los individuos y distintos sitios geográficos. La clave debe residir en la interacción entre el medio ambiente, la bacteria y el individuo. Mientras tanto, se han realizado diferentes esfuerzos por identificar y describir las cepas infectantes de *H pylori*, relacionándolas, por un lado, con el tipo de inflamación gástrica¹⁰⁻¹⁴ y, por otro, con las diferentes enfermedades en que se ha demostrado que este germen constituye un factor causal^{12,15-18}.

El objetivo del trabajo fue estudiar, en una población adulta portadora de patología gástrica no neoplásica (dispepsia no ulcerosa), la relación existente entre el tipo de cepas de *H pylori* infectantes en el estómago y el tipo e intensidad de la gastritis.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de pacientes: Al estudio se ingresó un total de 75 individuos, excluyéndose los resultados de 11 individuos (n=64). El estudio histopatológico completo fue factible de realizar en 69 de 75 individuos, excluyéndose cinco pacientes por material insuficiente (sin el espesor completo de la mucosa) y uno por hallazgo de adenocarcinoma gástrico. Por otro lado, en otros 5 individuos fracasó la extracción de ADN, con ausencia de amplificación de β -globina. Los individuos adultos consultaron en la Unidad de Endoscopia Digestiva del Consultorio Miraflores (Servicio de Salud Araucanía Sur, Temuco). Por consentimiento informado firmado, los pacientes aceptaron que sus antecedentes clínicos y demográficos, más una parte del material obtenido para biopsia fuese utilizado para este trabajo. Los criterios de selección final fueron ausencia de cáncer gástrico, ausencia de historia ulcerosa previa, sin tratamiento de erradicación previa de *H pylori*, sin uso de antagonistas H2 en las dos semanas previas a la endoscopia ni de inhibidores de bomba de protones cuatro semanas precedentes a la endoscopia. En cada uno de ellos se recolectó antecedentes personales y clínicos, los cuales fueron almacenados en forma ciega por quienes realizaron los estudios morfológicos y de biología molecular. El protocolo de trabajo fue autorizado por comités de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Frontera y de la Dirección del Servicio de Salud Araucanía Sur.

Extracción de ADN bacteriano: En cada paciente se procesó muestra de mucosa gástrica antral. Cada espécimen fue transportado en tubos con tampón de lisis (10 mM Tris pH 7,8, 5 mM EDTA pH 8,0, 0,5% SDS). La extracción de ADN se realizó según protocolo de aislamiento de ADN desde tejido fresco (Genomic Puregene, Gentra, USA). En resumen, se le adicionó proteinasa K 20 mg/mL, con incubación a 65°C hasta observar lisis total del tejido. Las proteínas fueron descartadas por precipitación con acetato de amonio 7,5 M pH 7,5. El ADN fue precipitado con isopropanol, lavado con etanol 70% y resuspendido en solución tampón TE (10 mM Tris pH 7,8, 5 mM EDTA pH 8,0).

Amplificación de ADN mediante PCR: Primero se realizó reacción de PCR anidado a cada muestra de ADN para búsqueda de *H pylori*. Los partidores

empleados fueron (5'CCCTCAGCCATCAGTCCCA-AAAA3') y (5'AAGAAGTCAAAAACGCCAA AAC3') para la primera reacción, consistente de 40 ciclos y (5'GCCAAATCATAAGTCCGCAGAA 3') y (5'TGA-GACTTTCCTAGAAGCGGTGTT 3') para la segunda reacción, consistente de 25 ciclos¹⁹. Los productos amplificados de 230 bp fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa y teñido con bromuro de etidio (Figura 1). Para evaluar la calidad y rendimiento

de la extracción de ADN se ocupó la presencia de productos de PCR del gen de β-globina humana²⁰.

Genotipificación bacteriana (PCR): Los partidores y las condiciones de PCR tipo específico con termociclador (MJ Research, PTC 200) para alelotipificación de genes *vacA* e *iceA*, y para indagar la presencia de gen *cagA* se muestran en la Tabla 1. Los productos amplificados fueron sometidos a

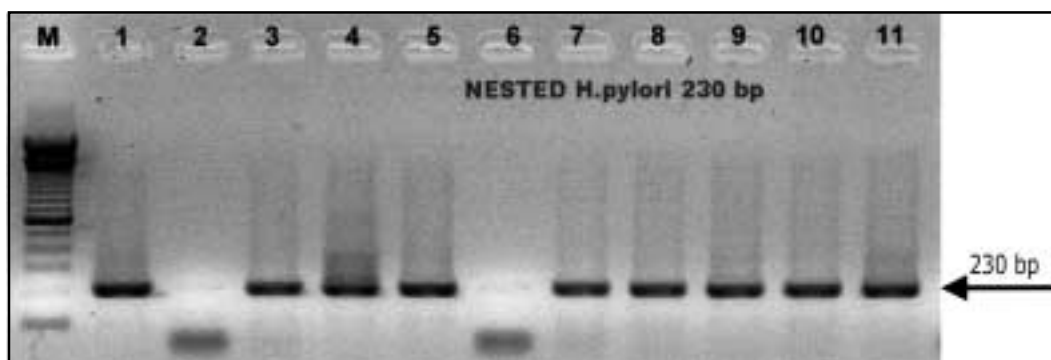


Figura 1. Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. En los carriles 1, 3-5 y 7-11 se observan bandas a nivel de 230 bp, de acuerdo a marcador de ADN visible en el carril (M). Tales productos de la amplificación corresponden a segmentos específicos del genoma de *H. pylori*.

Tabla 1. Condiciones empleadas para la amplificación de los genes *vacA*, *iceA* y *cagA* en biopsias endoscópicas del antro gástrico

Gen	Región	Nombre	Secuencia	Condiciones de PCR			Referencia bibliográfica
				Nº de ciclos	Temperatura de Hibridación (°C)	Tamaño del producto	
vacA	s1	VA1-F	forward 5' atg gaa ata caa caa aca cac 3'	35	52	259 bp	7
		VA1-R	reverse 5' ctg ctt gaa tgc gcc aaa c 3'				
	s2	VA1-F	forward 5' atg gaa ata caa caa aca cac 3'	35	52	286 bp	7
		VA1-R	reverse 5' ctg ctt gaa tgc gcc aaa c 3'				
	m1	VA3-F	forward 5' ggt caa aat gcg gtc atg g 3'	35	52	290 bp	7
		VA3-R	reverse 5' cca ttg gta cct gta gaa ac 3'				
m2	VA4-F	forward 5' gga gcc cca gga aac att g 3'	35	55	352 bp	7	
	VA4-R	reverse 5' cat aac tag cgc ctt gca c 3'					
iceA	iceA1	-	forward 5' gtg ttt tta acc aaa gta tc 3'	35	60	246 bp	32
		-	reverse 5' cta tag cca stc tct tt gca 3'				
	iceA2	-	forward 5' gtt ggg tat atc aca att tat 3'	35	60	229/334 bp	32
		-	reverse 5' ttg ccc tat ttt cta gta ggt 3'				
cagA	1228-1577	F1	forward 5' gat aac agg caa gct ttt gag g 3'	35	55	349 bp	7
		B1	reverse 5' ctg caa aag att gtt tgg cag a 3'				

electroforesis en gel de agarosa y teñido con bromuro de etidio (Figura 2).

Estudio histopatológico: Para el examen histopatológico se utilizó protocolo de acuerdo a pautas previamente publicadas²¹, con escalas visuales analógicas²², utilizando dos muestras de antro; una de la curvatura mayor y otra de la incisura angular. Los cortes histológicos fueron teñidos con hematoxilina-eosina, azul alciano pH 2,5, ácido periódico de Schiff y giemsa modificado. Dicho examen fue realizado por 2 observadores en forma independiente, aceptándose sólo casos con todo el espesor de la mucosa. Las diferencias de uno o más grados fueron reexaminadas por ambos observadores, llegándose a un consenso final. El protocolo consideró las siguientes características de la mucosa gástrica: infiltrado polimorfonuclear (PMN, escala 0-3), presencia y grado de excitosis PMN (0-3), infiltrado linfocitario (0-3),

atrofia (0-3), metaplasia intestinal (0-3), lesión del epitelio de revestimiento superficial (0-3), actividad regenerativa (0-3) y presencia y cantidad de organismos del tipo *H pylori* (0-3). Por último, se realizó diagnóstico final de acuerdo a la clasificación de Sydney modificada, Houston 1995²².

Estadística: El estudio de tendencia se realizó con prueba de suma de rangos de Wilcoxon, modificada por Cuzick (1985). La dependencia de variables nominales se efectuó con tabulaciones cruzadas (χ^2 con corrección de Yates o prueba exacta de Fisher). En todas las pruebas estadísticas se consideraron diferencias estadísticamente significativas con $p < 0,05$. Para el estudio de la concordancia se utilizó variables *kappa*, en tablas de 2x2, que fluctúa entre 0 y 1. Si el valor es menor a 0,4 la concordancia se considera baja o discreta y si es mayor de 0,8 se estima casi perfecta.

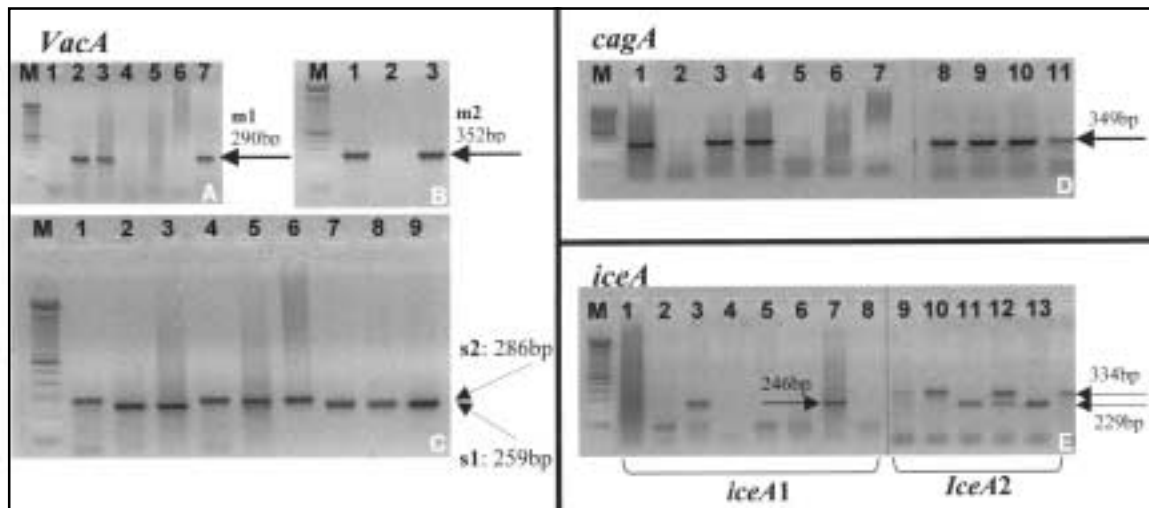


Figura 2. Geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio. A la izquierda geles de productos de amplificación de gen *vacA*, correspondientes a las porciones media (A: m1; B: m2) y señal (C: s1 y s2). En cada uno de ellos la banda del producto de PCR correspondiente está marcado con flecha y el tamaño en pares de bases, de acuerdo al marcador del carril (M). En el gel C los productos s1 y s2 se distinguen por una diferencia en la migración, producto de diferencia de tamaño de 27 bp. Arriba a la derecha geles de productos de amplificación de gen *cagA*, con presencia de banda a 349 bp en los carriles 1, 3, 4 y 8-11. Abajo a la derecha, gel de gen *iceA*, separando por línea los carriles 1-8 y 9-13, correspondientes a la amplificación de alelos *iceA1* e *iceA2*, respectivamente. El alelo *iceA1* se observa amplificado en los carriles 3 y 7. Por otro lado, el alelo *iceA2* se puede visualizar por amplificación de uno o dos productos de PCR en forma simultánea: 229 bp y 334 bp; concomitancia que se observa en el carril 12, y alternancia que se ve en los carriles 10, 11 y 13.

RESULTADOS

En el grupo completo, el promedio de edad fue 50,6±15,7 años (rango: 20-94), la relación hombre/mujer fue 0,37 y sólo tres casos tuvo uno o dos apellidos de origen mapuche (4%). En los individuos con infección por *H pylori*, el promedio de edad fue 52 años y en los no infectados el promedio de edad fue 45 (p=0,18).

En 82,8% (53/64) de los individuos se encontró positividad en el PCR específico para *H pylori*. Por otro lado, en 5/11 casos con PCR específico para *H pylori* negativo se encontró bacilos del tipo *H pylori* en los cortes histológicos, aunque en todos ellos con cantidad muy escasa (evidencia molecular + evidencia histológica= 91%). La correlación entre ambos métodos con variable kappa fue de 0,33, en el rango de concordancia baja o discreta.

La genotipificación del gen *vacA* fue s2/m2 (35,9%), s1/m1 (24,5%) y s1/m2 (7,6%). Los casos restantes fueron parcial o totalmente no tipificables (5 y 3 casos, respectivamente) o con amplificación de más de un alelo en la región m (9 casos). Sólo se encontró un caso s2/m1, corres-

pondiente a uno de aquellos sin material suficiente para estudio histológico (no considerado en la correlación de genotipos con las lesiones histopatológicas). De acuerdo a la genotipificación de los genes *vacA* o *iceA*, el 20,8% (11/53) de los casos con PCR específico para *H pylori* positivo presentaron amplificación de más de una combinación de alelos, denotando la presencia de, al menos, dos cepas de *H pylori* en el material estudiado (*vacA* s1/m1-m2 o *vacA* s2/m1-m2 o *iceA1/iceA2*).

En la Figura 3 se muestra la relación existente entre las características genotípicas del gen *vacA* de las cepas de *H pylori* identificadas y la actividad inflamatoria aguda, según el infiltrado PMN de la lámina propia y en el epitelio de revestimiento (Figura 4a). No se encontró correlación estadísticamente significativa entre la presencia de los alelos s2, m1 y m2 y el grado de infiltración leucocitaria PMN (χ^2 con corrección de Yates, p=0,21, p=0,1 y p=0,44, respectivamente). En cambio, la presencia del alelo s1 del gen *vacA* sí se correlacionó positivamente con la intensidad del infiltrado PMN (χ^2 con corrección de Yates, p=0,01).

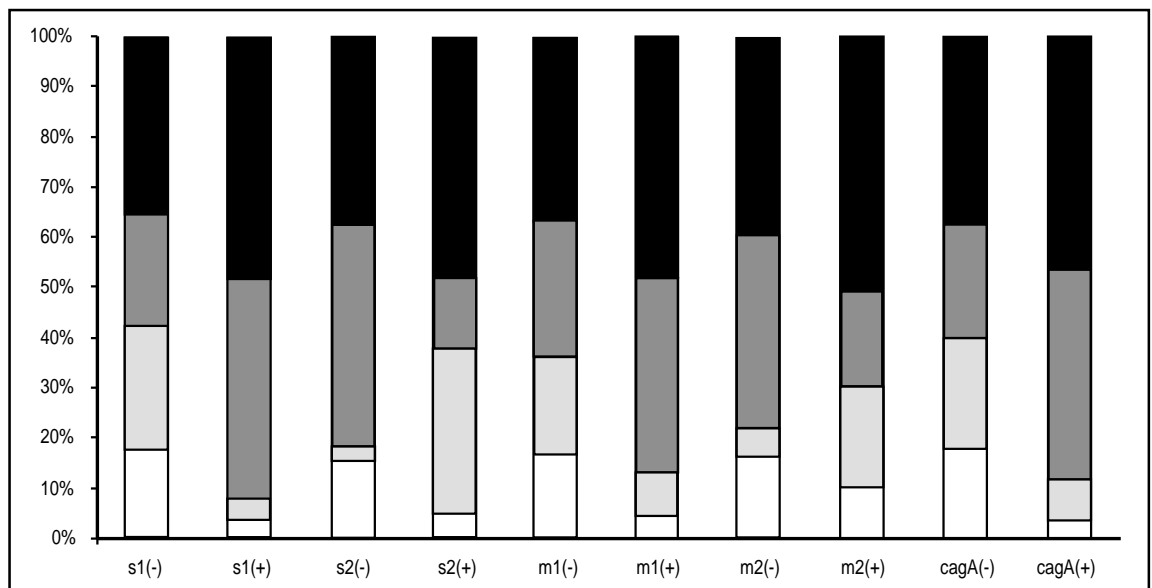


Figura 3. Barras que muestran en forma porcentual la intensidad del infiltrado polimorfonuclear neutrófilo (blanco: ausente; gris claro: leve; gris oscuro: moderado; negro: intenso) en relación a la presencia o ausencia de los alelos de las regiones señal (s1 o s2) y media (m1 o m2) del gen *vacA*, y la presencia o ausencia del gen *cagA*.

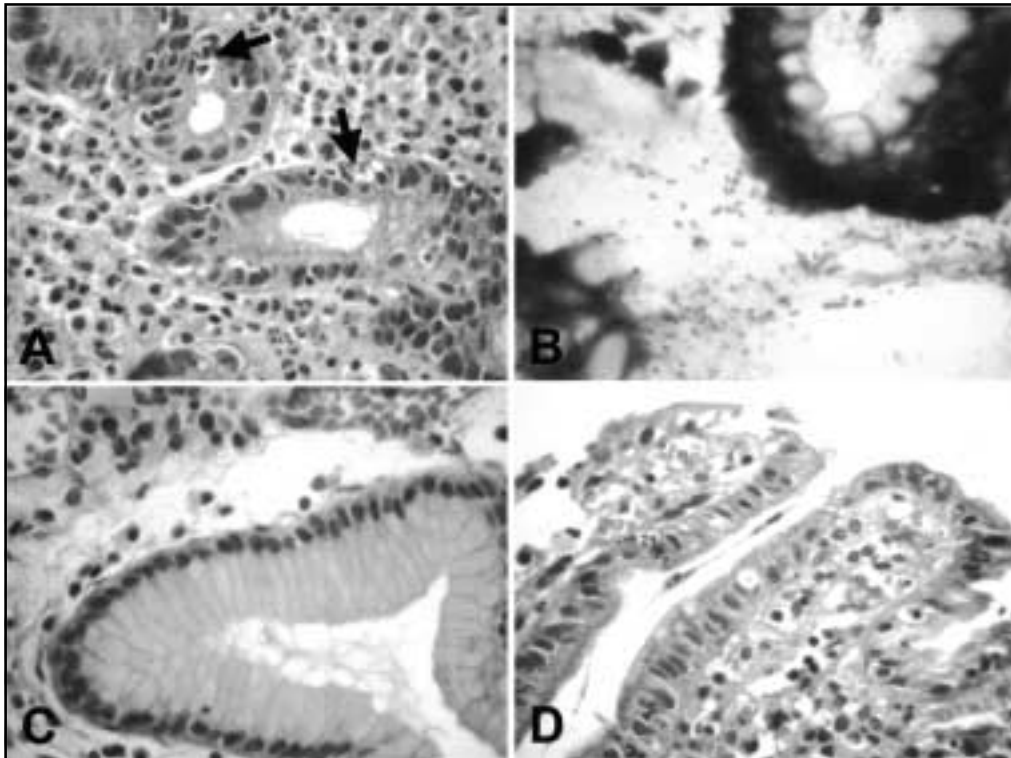


Figura 4. Microfotografías de gastritis crónica con aumento del infiltrado inflamatorio, daño epitelial y presencia de bacterias de tipo *H pylori*. A (arriba izquierda): gastritis crónica con aumento del infiltrado inflamatorio de lámina propia, compuesto por células plasmáticas, linfocitos y PMN, células que también se encuentran dentro del epitelio de cuellos glandulares, indicadas por flechas (hematoxilina y eosina, magnificación original 400x); B (arriba derecha): mucus superficial con abundantes bacterias curvas del tipo *H pylori* (giemsa modificado, magnificación original 1000x); C (abajo izquierda): foveola gástrica con epitelio de revestimiento cilíndrico simple con mucosecreción conservada, con núcleos de disposición basal y citoplasma apical vacuolado (hematoxilina y eosina, magnificación original 400x); D (abajo derecha): gastritis crónica con extenso daño del epitelio de revestimiento superficial y foveolar, con marcada disminución de la mucosecreción superficial (en comparación con figura C), irregularidad y agrandamiento nuclear, microerosiones y exocitosis PMN (hematoxilina y eosina, magnificación original 400x).

En la Figura 5 se muestra la asociación entre la presencia de los alelos de la región señal y media del gen *vacA* de las cepas de *H pylori* reconocidas y el daño del epitelio de revestimiento de la superficie mucosa y de las foveolas gástricas (Figura 4d). A diferencia del infiltrado inflamatorio PMN, el daño epitelial presentó correlación positiva y estadísticamente significativa con los alelos s1 y m1 (χ^2 con corrección de Yates, $p=0,00002$ y $p=0,007$, respectivamente). Además, la lesión del epitelio de revestimiento exhibió correlación ne-

gativa y estadísticamente significativa con los alelos s2 y m2 (χ^2 con corrección de Yates, $p=0,002$ y $p=0,02$, respectivamente).

El gen *cagA* se amplificó con PCR específico en el 49,1% (26/53) de los casos con infección por *H pylori* (evidencia molecular). La expresión encontrada del gen *cagA* se correlacionó en forma positiva y estadísticamente significativa con la presencia de los alelos s1 y m1 del gen *vacA* (χ^2 con corrección de Yates, $p=0,000009$ y $p=0,01$, respectivamente). Por lo mismo, la expresión del gen *cagA* se correlacionó

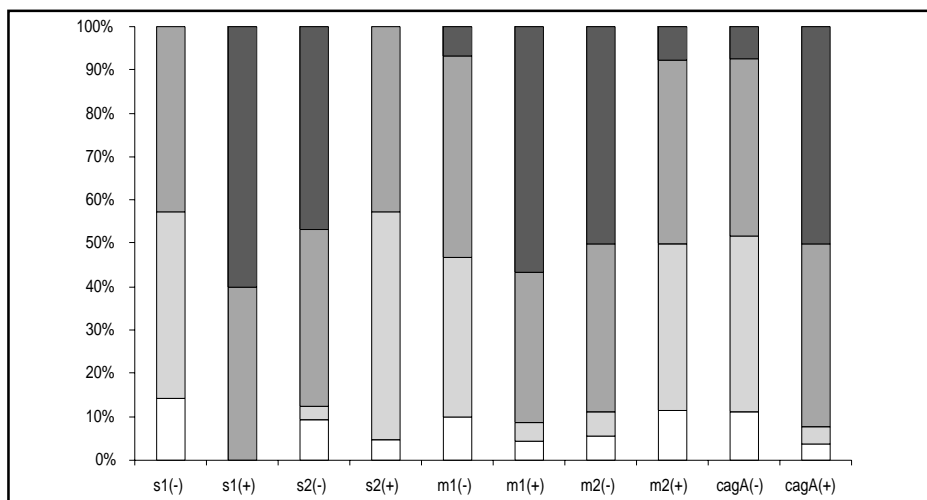


Figura 5. Barras que muestran en forma porcentual la intensidad del daño epitelial en la mucosa gástrica (depleción de mucus, lesiones celulares degenerativas y microerosiones; blanco: ausente; gris claro: leve; gris oscuro: moderado; negro: intenso) en relación a la presencia o ausencia de los alelos de las regiones señal (s1 o s2) y media (m1 o m2) del gen *vacA*, y a la presencia o ausencia del gen *cagA*.

negativa y estadísticamente significativa con la presencia de los alelos s2 y m2 del gen *vacA* (χ^2 con corrección de Yates, $p=0,0001$ y $p=0,03$, respectivamente). Finalmente, la presencia del gen *cagA* en las cepas de *H. pylori* amplificadas con PCR específico se correlacionó en forma estadísticamente significativa con la intensidad del infiltrado PMN y la severidad del daño epitelial (Figuras 3 y 5, respectivamente); (χ^2 con corrección de Yates, $p=0,04$ y $p=0,001$, respectivamente).

Los alelos del gen *iceA* fueron tipificables en 86,8% (46/53), con 15,1% (8/53) tipo *iceA1*, 60,4% (32/53) *iceA2* y 11,3% (6/53) *iceA1/iceA2*. Los resultados de esta alelotipificación no se correlacionaron en forma estadísticamente significativa, con el grado de infiltración PMN ni con la intensidad del daño epitelial de la mucosa gástrica. Finalmente, la presencia del alelo *iceA1* no se correlacionó con la presencia del gen *cagA* ni con formas específicas del gen *vacA*.

No se encontró relación entre la presencia del gen *cagA* o la alelotipificación de genes *vacA* e *iceA* con los cambios histopatológicos crónicos de la mucosa gástrica, tales como la presencia de metaplasia intestinal, la atrofia o la intensidad del infiltrado linfocitario. Por último, el estudio de tendencia demostró una asociación estadísticamente signi-

ficativa entre la cantidad de gérmenes y la presencia de los alelos s1 y m1 del gen *vacA* y con la presencia del gen *cagA* (prueba de suma de rangos de Wilcoxon modificada por Cuzick, probabilidad $>|z|=0,02$, 0,01 y 0,05, respectivamente).

DISCUSIÓN

El porcentaje (83%) encontrado de infección por *H. pylori* (evidencia molecular) es similar a otras publicaciones^{23,24} y comparable al 82% reportado por nosotros el año 2000 en Temuco, en una serie de 200 pacientes²¹. Además, el promedio de edad de los individuos infectados presentó una tendencia superior al de los no infectados con *H. pylori*, sin diferencias significativas, pero similar a lo comunicado con anterioridad²⁵.

La genotipificación de la infección por *H. pylori* ha cobrado significancia, dada la asociación encontrada entre genotipos *cagA+* o *vacA* s1/m1 con riesgo elevado de cáncer gástrico^{26,27} o úlcera péptica^{16,27-29}, con riesgos 6 veces mayor en individuos *cagA+* que en controles con infección por *H. pylori* *cagA-*. Estas variables pueden llegar a tener considerable importancia en el tamizaje de poblaciones de mayor riesgo de cáncer gástrico,

permitiendo seleccionar a grupos de pacientes con mayores posibilidades de desarrollar cáncer gástrico. En nuestros pacientes, la frecuencia de la infección *cagA+* fue similar a la de los grupos controles (sin cáncer), por debajo de la frecuencia reportada en individuos con carcinoma gástrico, lo cual alcanza aproximadamente a 80%²⁶.

La distribución de frecuencia de los genotipos de las cepas estudiadas fue similar a la reportada en otros estudios nacionales^{16,30}, particularmente en la presencia del gen *cagA* y en la presencia de los subgenotipos s1 o m1 del gen *vacA*. Además, el hallazgo de un caso de genotipo s2/m1 en el gen *vacA* confirma la existencia, pero también la rareza, de este tipo de cepa de *H pylori*³⁰.

En el gen *vacA*, la presencia de los alelos s1 y m1 de las regiones señal y media, respectivamente, se relacionó en forma directa con la intensidad del componente exudativo y alterativo de la gastritis. Además, la presencia de los alelos s2 y m2 se relacionó en forma inversa con este componente agudo, particularmente con la severidad del daño epitelial. Aunque en el ser humano no ha sido posible demostrar la capacidad lesiva de la toxina vacuolizante producida por el gen *vacA*, la asociación de los genotipos s1/m1 o s1/m2 con una mayor inflamación aguda de la mucosa gástrica, sustenta el concepto actual que es el genotipo del gen *vacA* lo determinante en la mayor producción de la proteína citotóxica vacuolizante lesiva⁷.

Similar condición fue encontrada en el gen *cagA*, particularmente en su asociación con cambios inflamatorios agudos de la mucosa gástrica. Además, si bien es cierto no hay una concordancia absoluta entre la presencia de este gen en las cepas de *H pylori* y la expresión de formas más patogénicas del gen *vacA*, el análisis estadístico sí apunta a que la cepas de *H pylori* estudiadas presentaron asociaciones significativas y coincidentes en su capacidad lesiva, con una particular agregación de cepas *cagA+* y *vacA* s1/m1 o *vacA* s1/m2^{7,31}. Conviene hacer notar que el mecanismo para producir una mayor exocitosis PMN y daño epitelial consecutivo, probablemente, reside en la particular inducción de producción de IL-8 por cepas *cagA+*, la cual de por sí atrae PMN³².

En el grupo estudiado, el genotipo s2/m2 del gen *vacA* se encontró en un poco más de un tercio de los casos. La presencia de este genotipo constituye por sí mismo un factor protector, con gérme-

nes que más que parásitos estrictos, podrían catalogarse como comensales. Similar condición se aprecia en las cepas *cagA-*, las que también podrían ser visualizadas como comensales, particularmente si no existe asociación con cambios inflamatorios agudos en la mucosa gástrica¹.

Examinado en forma recíproca, la presencia de cambios inflamatorios agudos moderados o severos en gastritis asociada a infección por *H pylori*, permite presumir la presencia de cepas de *H pylori* con mayor capacidad patogénica. Mientras no sea posible contar en forma rutinaria con la genotipificación de *H pylori* infectante, se podría permutar la determinación del genotipo bacteriano por la apreciación histopatológica de los cambios inflamatorios, considerando al infiltrado PMN y particularmente al daño epitelial. Estos hallazgos deberían servir para la definición de factores de riesgo en el estudio de individuos con gastritis, con variables de tipo morfológico y microbiológico, útil para la definición de pautas de tratamiento de erradicación de esta bacteria.

Desde un punto de vista biológico, la inflamación exudativa y alterativa se acompaña de daño epitelial, el cual se ha descrito como causa de aumento de la proliferación celular³³, que condicionaría una mayor probabilidad de transformación neoplásica si esta alteración persiste por décadas. Por otro lado, desde un punto de vista epidemiológico también se ha descrito que determinados genotipos de *H pylori* implican mayor riesgo de cáncer gástrico³⁴, lo cual también refuerza el concepto de que la genotipificación bacteriana debiera ser implementada en la práctica clínica.

Si bien es cierto nuestros resultados no encontraron correlación entre los tipos de *H pylori* infectantes y la inflamación crónica, existen otros trabajos que sí han encontrado tal correlación³⁵. En este caso, es probable que factores confundentes hayan participado en la no demostración de esta asociación. Similar explicación encontramos para la ausencia de correlación entre la presencia del genotipo *iceA1* y la inflamación aguda o crónica³⁶. Para ambos efectos será necesario contar con un número mayor de casos y que suceda que éstos sean obtenidos de diferentes áreas geográficas, con distintas expresiones epidemiológicas de cáncer gástrico y de gastritis crónica.

La metodología empleada para amplificar el ADN de *H pylori* ofrece ventajas de simpleza y

confiabilidad. Ambas condiciones podrían plantearse como el fundamento para lograr introducir la genotipificación de *H pylori* en la práctica clínica de rutina, reduciendo el costo a rangos de accesibilidad. Además, el estudiar directamente el material de biopsia permitió demostrar que 1 de cada 5 casos infectados con *H pylori* poseen, a lo menos, dos cepas distintas de la bacteria, lo cual proporcionaría un mejor valor predictivo al método si lo que se desea demostrar son cepas de perfil lesivo.

Existe escasa información de seguimiento de individuos infectados con *H pylori* y dispepsia no ulcerosa o pseudo ulcerosa. En un estudio de 2 años de duración, se demostró que 8% de personas con dispepsia no ulcerosa desarrollaron úlcera péptica, siendo la infección por *H pylori* un factor de riesgo independiente de la edad del paciente y del uso de

antiinflamatorios no esteroideos³⁷. Además, otro estudio demostró que 2,9% de individuos con infección por *H pylori* desarrolló cáncer gástrico, en un promedio de seguimiento de 7,8 años³⁸. Estos antecedentes confirman la importancia que podría adquirir el estudio cuidadoso de individuos con infección por *H pylori*, independientemente que tengan o no úlcera péptica, carcinoma gástrico o linfoma gástrico, dado que un porcentaje significativo podría desarrollar alguna patología gástrica mayor. En tal sentido, la realización de endoscopias de control, la obtención de la información genotípica del germen y la aparición de cambios inflamatorios agudos manifiestos en la histología gástrica podrían constituir elementos de juicio valiosos en el proceso de decisión clínica y terapéutica de individuos con infección por *H pylori*.

REFERENCIAS

1. CLEARFIELD HR. *Helicobacter pylori*: aggressor or innocent bystander? *Med Clin North Am* 1991; 75: 815-23.
2. LABIGNE A, DE REUSE H. Determinants of *Helicobacter pylori* pathogenicity. *Infect Agents Dis* 1996; 5: 191-202.
3. SUERBAUM S, MICHETTI P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-86.
4. CORREA P. *Helicobacter pylori* as a pathogen and carcinogen. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48 Suppl 4: 19-24.
5. PARETI G, CERLETTI C, GAETANO G. How old is *Helicobacter pylori*? *Lancet* 2002; 359: 1700-1.
6. MARSHALL BJ. *Campylobacter pyloridis* and gastritis. *J Infect Dis* 1986; 153: 650-7.
7. ATHERTON JC, CAO P, PEEK RM JR, TUMMURU MK, BLASER MJ, COVER TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995; 270: 17771-7.
8. FOX JG, CORREA P, TAYLOR NS, THOMPSON N, FONTHAM E, JANNEY F ET AL. High prevalence and persistence of cytotoxin-positive *Helicobacter pylori* strains in a population with high prevalence of atrophic gastritis. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 1554-60.
9. PEEK RM JR, THOMPSON SA, DONAHUE JP, THAM KT, ATHERTON JC, BLASER MJ ET AL. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a *Helicobacter pylori* gene, *iceA*, that is associated with clinical outcome. *Proc Assoc Am Physicians* 1998; 110: 531-44.
10. CRABTREE JE. Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10 Suppl 1: 29-37.
11. PEEK RM JR, MILLER GG, THAM KT, PÉREZ-PÉREZ GI, ZHAO X, ATHERTON JC ET AL. Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to *cagA+* *Helicobacter pylori* strains [see comments]. *Lab Invest* 1995; 73: 760-70.
12. ATHERTON JC, PEEK RM JR, THAM KT, COVER TL, BLASER MJ. Clinical and pathological importance of heterogeneity in *vacA*, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1997; 112: 92-9.
13. HAN SR, SCHNEIDER T, LOOS M, BHAKDI S, MAEURER MJ. One step polymerase chain reaction based typing of *Helicobacter pylori vacA* gene: association with gastric histopathology. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1999; 188: 131-8.
14. NOGUEIRA C, FIGUEIREDO C, CARNEIRO F, GOMES AT, BARREIRA R, FIGUEIRA P ET AL. *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. *Am J Pathol* 2001; 158: 647-54.
15. ASHOUR AA, MAGALHAES PP, MENDES EN, COLLARES GB, DE GUSMAO VR, QUEIROZ DM ET AL. Distribution of *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastri-

- tis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 33: 173-8.
16. FAÚNDEZ G, TRONCOSO M, FIGUEROA G. *cagA* and *vacA* in strains of *Helicobacter pylori* from ulcer and non-ulcerative dyspepsia patients. *BMC Gastroenterol* 2002; 2: 20.
 17. FIGUEIREDO C, MACHADO JC, PHAROAH P, SERUCA R, SOUSA S, CARVALHO R ET AL. *Helicobacter pylori* and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high risk individuals for gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 1680-7.
 18. GRAHAM DY, YAMAOKA Y. Disease-specific *Helicobacter pylori* virulence factors: the unfulfilled promise. *Helicobacter* 2000; 5 Suppl 1: 3-9.
 19. VAN ZWET AA, THUIS JC, KOOISTRA SA, SCHIRM J, SNIJDER JAM. Sensitivity of culture compared with that of polymerase chain reaction for detection of *Helicobacter pylori* from antral biopsy samples. *J Clinical Microbiol* 1993; 31: 1918-20.
 20. SAIKI RK, SCHARF S, FALOONA F, MULLIS KB, HORN GT, ERLICH HA ET AL. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. 1985. *Biotechnology* 1992; 24: 476-80.
 21. ARAYA JC, VILLASECA MA, ROA I, ROA JC. *Helicobacter pylori* and chronic gastritis: relationship between infection and inflammatory activity in a high risk population for gastric cancer. *Rev Méd Chile* 2000; 128: 259-65.
 22. DIXON MF, GENTA RM, YARDLEY JH, CORREA P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1161-81.
 23. FERNÁNDEZ HJ, IBARRA H, LEÓN J, TOLEDO C. Isolation of *Campylobacter pylori* from gastric biopsies in people from the south of Chile. *Rev Méd Chile* 1989; 117: 1180-1.
 24. FIGUEROA G, ACUÑA R, TRONCOSO M, PORTELL D, TOLEDO S, VALENZUELA J. *Helicobacter pylori* infection in Chile. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 983-9.
 25. DOOLEY CP, COHEN H, FITZGIBBONS PL, BAUER M, APPLEMAN MD, PÉREZ-PÉREZ GI ET AL. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. *N Engl J Med* 1989; 321: 1562-6.
 26. PARSONNET J, FRIEDMAN GD, ORENTREICH N, VOGELMAN H. Risk for gastric cancer in people with *CagA* positive or *CagA* negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 297-301.
 27. ARENTS NL, VAN ZWET AA, THUIS JC, KOOISTRA-SMID AM, VAN SLOCHTEREN KR, DEGENER JE ET AL. The importance of *vacA*, *cagA*, and *iceA* genotypes of *Helicobacter pylori* infection in peptic ulcer disease and gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2603-8.
 28. CHOI KM, LIM WJ, PARK JK, HWANG SY. Presumptive mechanisms of peptic ulceration by *Helicobacter pylori* *VacA* involving mucoprotease and *CagA*. *Mol Cells* 2001; 11: 312-20.
 29. GUNN MC, STEPHENS JC, STEWART JA, RATHBONE BJ, WEST KP. The significance of *cagA* and *vacA* subtypes of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. *J Clin Pathol* 1998; 51: 761-4.
 30. MARTÍNEZ A, GONZÁLEZ C, KAWAGUCHI F, MONTOYA R, CORVALÁN A, MADARIAGA J ET AL. *Helicobacter pylori*: *cagA* analysis and *vacA* genotyping in Chile. Detection of a s2/m1 strain. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 1147-53.
 31. NOGUEIRA C, FIGUEIREDO C, CARNEIRO F, GOMES AT, BARREIRA R, FIGUEIRA P ET AL. *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. *Am J Pathol* 2001; 158: 647-54.
 32. YAMAOKA Y, KITA M, KODAMA T, SAWAI N, KASHIMA K, IMANISHI J. Induction of various cytokines and development of severe mucosal inflammation by *cagA* gene positive *Helicobacter pylori* strains [see comments]. *Gut* 1997; 41: 442-51.
 33. HOSHI T, SASANO H, KATO K, OHARA S, SHIMOSEGAWA T, TOYOTA T ET AL. Cell damage and proliferation in human gastric mucosa infected by *Helicobacter pylori*, a comparison before and after H pylori eradication in non-atrophic gastritis. *Hum Pathol* 1999; 30: 1412-7.
 34. ASGHAR RJ, PARSONNET J. *Helicobacter pylori* and risk for gastric adenocarcinoma. *Semin Gastrointest Dis* 2001; 12: 203-8.
 35. KUIPERS EJ, PÉREZ-PÉREZ GI, MEUWISSEN SG, BLASER MJ. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the *cagA* status. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1777-80.
 36. VAN DOORN LJ, FIGUEIREDO C, SANNA R, PLAISIER A, SCHNEEBERGER P, DE BOER W ET AL. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998; 115: 58-66.
 37. HSU PI, LAI KH, LO GH, TSENG HH, LO CC, CHEN HC ET AL. Risk factors for ulcer development in patients with non ulcer dyspepsia: a prospective two years follow up study of 209 patients. *Gut* 2002; 51: 15-20.
 38. UEMURA N, OKAMOTO S, YAMAMOTO S, MATSUMURA N, YAMAGUCHI S, YAMAKIDO M ET AL. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-9.