

**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA  
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LA INFECCIÓN  
POR CEPAS DE *Helicobacter pylori* GENOTIPO *cagA+*  
Y LA PATOLOGÍA DE LA GASTRITIS, EN PACIENTES  
DEL ECUADOR**

**Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:**

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**ELABORADO POR:**

**VIRGINIA BEATRIZ VALLEJO ROJAS**

**SANGOLQUÍ, junio de 2008**

## CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

### 1.1 Formulación del problema

El cáncer es una patología resultado de un crecimiento incontrolado y diseminado de células, que puede afectar prácticamente a todos los tejidos del cuerpo. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (2006), los cánceres de pulmón, estómago y colorectal, presentan las cinco más altas tasas de mortalidad debida a cáncer en el mundo, tanto para hombres como para mujeres. En el año 2005, el 13% de las causas de muerte en el mundo fue el cáncer y de éstas más del 70% tuvo lugar en países en vías de desarrollo. Estimándose cifras no alentadoras que pronostican 11.4 millones de personas afectadas, para el 2030 (World Health Organization, 2006). En nuestro país la mortalidad debida al cáncer ocupó el doceavo lugar entre las principales causas de muerte en el 2005, siendo el cáncer de estómago la principal neoplasia maligna que afecta a los ecuatorianos (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2006).

A nivel mundial, un quinto de los cánceres están relacionados con las afecciones crónicas (WHO, 2006), como es el caso de la infección con la bacteria *Helicobacter pylori* la cual incrementa el riesgo de padecer cáncer gástrico (Parsonnet *et al*, 1991), hecho que ha conducido a que esta bacteria sea clasificada como un carcinógeno biológico, por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, IARC<sup>1</sup> (citado por National Institute of Cancer, 2006). A pesar que el cáncer gástrico es una enfermedad multifactorial (Correa *et al*, 1975; Correa, 1992; Crew & Neugut, 2006), uno de los factores de riesgo más importantes para su génesis es la infección por *H. pylori*.

La infección con *H. pylori* es frecuente en los humanos. El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, CDC, estima que aproximadamente dos tercios de la población mundial hospedan a la bacteria (citado por NCI, 2006). En cuanto a su prevalencia se han encontrado diferencias significativas, entre los países desarrollados y en vías de desarrollo, así como de acuerdo a

---

<sup>1</sup> IARC: Internacional Agency for Research on Cancer, por sus siglas en inglés.

la etnia, lugar de nacimiento, y factores socioeconómicos entre la población de un mismo país. Actualmente, se presume que la infección ocurre preferentemente en la infancia, no obstante, su principal ruta de transmisión aún es tema de investigación (Kim, 2005). En Ecuador, la tasa de infección por *H. pylori* es del 93.2% (Sempértegui *et al*, 2007), y su seroprevalencia en la población infantil es del 63.03% (Gómez *et al*, 2004).

Consecuentemente, se han realizado investigaciones para determinar cuáles son las estrategias que ha desarrollado *H. pylori* para colonizar el hospedero, y asegurar su supervivencia. En las cuales, se ha dilucidado la existencia de varios factores de virulencia, que permiten a esta bacteria sobrevivir en el ambiente extremadamente ácido del tracto gástrico, alcanzar el ambiente más neutral de la capa mucosa, y resistir a la respuesta inmune humana, resultando esto en una infección persistente (Stein, Rappuoli & Covacci, 2001).

Uno de estos factores de virulencia es la denominada “isla de patogenicidad”, *cag* PAI. Esta isla contiene 31 fases de lectura abierta (ORFs<sup>2</sup>), una de las cuales codifica para la proteína antígeno A asociada a la citotoxina, *CagA*<sup>3</sup>. Aunque la función de *CagA* a nivel molecular es aún desconocida, se ha sugerido que esta involucrada en cambios de la morfología y actividad de fosforilación de la célula hospedera. Estos cambios morfológicos constituyen en los rearrreglos del citoesqueleto de actina, lo que conlleva a la formación de estructuras que facilitarían la adherencia de la bacteria. También, la isla de patogenicidad *cag* induce a la producción de un factor quimiotáctico, la Interleuquina 8 (IL-8), por parte de las células epiteliales gástricas que causa la infiltración de neutrófilos en el sitio infectado, dando como resultado una fuerte respuesta inflamatoria en la mucosa gástrica (Stein *et al*, 2001).

En este sentido, las investigaciones indican que el daño oxidativo del DNA esta asociado con la infección por *H. pylori*, y que pacientes positivos para *cagA* están asociados a estados más severos de gastritis (Li, Pignatelli & Ohshima, 2004; Farinati *et al*, 2006). Asimismo, estudios efectuados en líneas

---

<sup>2</sup> ORFs: Open Reading Frames, por sus siglas en inglés.

<sup>3</sup> *CagA*: cytotoxin-associated gene A antigen, por sus siglas en inglés.

celulares indican que la proteína CagA, altera los mecanismos que mantienen la diferenciación normal del epitelio, incluyendo la adhesión celular, polaridad celular, y la inhibición de la migración (Bagnoli, Buti, Tompkins, Covacci & Amiela, 2005), señalando de esta forma que la infección con cepas de *H. pylori cagA* positivas incrementa el riesgo para cáncer gástrico sobre el riesgo asociado con la infección solamente de *H. pylori* (Kuipers, Pérez-Pérez, Meuwissen & Blazer, 1995; Parsonnet, Friedman, Orentreich & Vogelman, 1997; Sozzi *et al*, 1998; Maarros *et al*, 1999; Ławniczak & Starzyńska, 2002; Wu *et al*, 2003; Huang, Zheng, Sumanac, Irvine & Hunt, 2003).

En nuestro país, solamente se cuenta con un estudio relacionado al genotipo de las cepas de *H. pylori* que infectan a los ecuatorianos, la investigación efectuada en el hospital de SOLCA en Guayaquil reveló un gran predominio del genotipo *cagA+*, 92.1%, empero el estudio fue generado con un análisis de 38 muestras (Debets-Ossenkopp *et al*, 2003). Situación ineludible para realizar estudios dentro de esta línea investigativa, que permitan conocer el comportamiento de las cepas de *H. pylori* en relación al genotipo *cagA*, y que podrán ser usados en la identificación de individuos con mayor riesgo para el desarrollo del cáncer gástrico.

## **1.2 Justificación del problema**

El cáncer es un problema de salud pública a nivel mundial. Afecta a todas las personas, desde jóvenes a adultos mayores, tanto a hombres como a mujeres, así como a individuos de condiciones socioeconómicas alta y baja (World Health Organization, 2006).

El cáncer gástrico se ha registrado en un alto índice a nivel global, llegando a estar entre los cinco cánceres que se presentan con mayor frecuencia (WHO, 2006), y es a nivel mundial la segunda causa más común relacionada a defunciones por cáncer. Esto ha conducido a la realización de estudios, que han descrito al cáncer gástrico como una enfermedad multifactorial (Correa *et al*, 1975; Correa, 1992; Crew & Neugut, 2006), encontrando que entre los factores de riesgo están: la infección por *Helicobacter pylori*, la dieta y la obesidad (Crew & Neugut, 2006). De éstos, *H.*

*pylori* es uno de los factores más importantes en su génesis (National Institute of Cancer, 2006), suceso que ha marcado una nueva línea investigativa en la comunidad científica a nivel mundial, lo cual se puede cuantificar y ver reflejado en la gran cantidad de artículos publicados respecto a *H. pylori* hasta el presente.

La asociación entre el cáncer gástrico y *H. pylori* puede ser descrita por dos posibles mecanismos: el uno sostiene, que por sí misma la bacteria promueve un efecto de carcinogénesis, y el otro se basa en el establecimiento de un ambiente carcinogénico debido a una infección persistente con *H. pylori*. En el segundo caso, aunque intrínsecamente *H. pylori* no promueve el efecto carcinogénico, la infección causa inflamación de la mucosa gástrica y la infección crónica causa una atrofia de la mucosa, dando como resultado una metaplasia intestinal, siendo estos últimos cambios considerados como importantes precursores del cáncer gástrico (Asaka, Sepúlveda, Sugiyama & Graham, 2001).

A pesar que la infección por *H. pylori* es prevalente en poblaciones asintomáticas, de las cuales solo unas pocas personas desarrollan cáncer, es decir, no todas las cepas de *H. pylori* son igualmente patógenas (Sozzi *et al*, 1998), esta constituye una razón suficiente para investigar sobre los factores de virulencia inherentes a la bacteria que pueden influir en el desarrollo del cáncer gástrico, una vez que se ha establecido la infección por *H. pylori*. Principalmente, cuando estudios señalan que países en vías de desarrollo, como es nuestro caso, presentan una mayor prevalencia a infecciones por *H. pylori* (Kim, 2005). Uno de estos factores constituyen la expresión proteica diferenciada entre las cepas de *H. pylori* que infectan al individuo, proteínas que ayudan a la bacteria a una mejor colonización y supervivencia dentro del hospedero (Stein *et al*, 2001).

Tomando esto como precedente, estudios han encontrado una asociación entre la infección con cepas de *H. pylori* que expresan la proteína CagA y un incremento en la inducción de la gastritis, aumentando de esta forma el riesgo para el cáncer gástrico. Asimismo, estas cepas *cagA* positivas inducen a la producción por parte de las células epiteliales gástricas de un factor

quimiotáctico, la interleuquina 8 (IL-8), causante de la infiltración de neutrófilos en el sitio infectado, dando como resultado una fuerte respuesta inflamatoria en la mucosa gástrica (Stein *et al*, 2001).

Considerando que, en nuestro país existen escasos estudios relacionados al análisis del comportamiento de *H. pylori* en la población, es precisa la investigación planteada, para de esta forma no solo se obtenga un referente de la prevalencia de *H. pylori* en la población ecuatoriana, sino lograr establecer el genotipo que se presenta con mayor frecuencia entre los individuos y determinar cuál es la relación de este factor de virulencia con la severidad del daño histológico. Estudio que tendrá un gran impacto, y permitirá evaluar las diferencias potenciales en la prevalencia e intensidad de las patologías gástricas, entre pacientes infectados con cepas *cagA* positivas y *cagA* negativas.

Asimismo, en el caso de que esta investigación encontrara una mayor incidencia de infección por *H. pylori* con cepas *cagA* positivas, correlacionada patologías gástricas más severas, y una significativa presencia de cambios sugestivos para el cáncer gástrico entre los individuos analizados, este estudio podrá ser vinculado para la realización de nuevas investigaciones encaminadas al diseño de estrategias para evitar el desarrollo del cáncer gástrico. Caso contrario, si no se determina esta relación, este trabajo servirá como referente para que nuevas investigaciones traten de determinar otros posibles factores intrínsecos de *H. pylori*, que estarían asociados a las patologías más severas e implicados en el desarrollo de la oncopatología gástrica entre los ecuatorianos. Preocupándose siempre por único objetivo, mejorar la calidad de vida del individuo afectado por esta bacteria.

### **1.3 Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Determinar la relación entre la infección por cepas de *Helicobacter pylori* genotipo *cagA+* y las patologías gástricas, en pacientes de tres hospitales de la provincia de Pichincha, Ecuador.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

Evaluar la prevalencia de *H. pylori* en la población analizada.

Evaluar la prevalencia del genotipo *cagA+* para *H. pylori* en la población analizada.

Detallar la frecuencia de las patologías gástricas encontradas en la población analizada.

Correlacionar la positividad para el genotipo *cagA* con la edad, sexo y patologías gástricas, en la población analizada infectada con *H. pylori*.

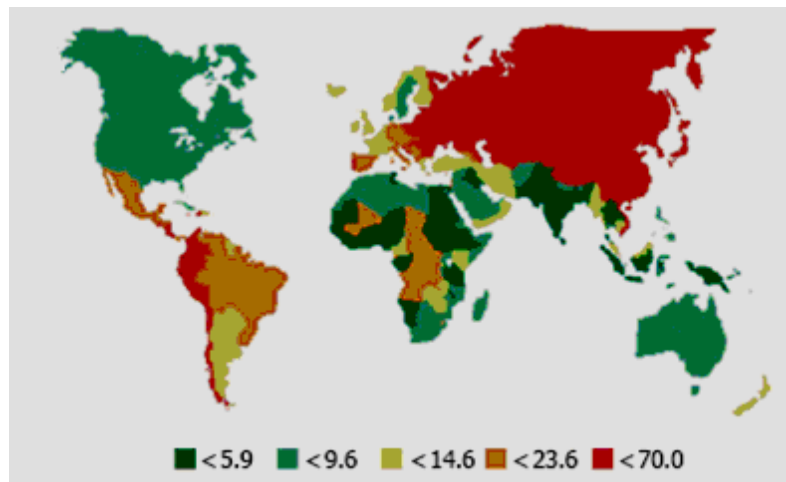
## **1.4 Marco Teórico**

### **1.4.1 Generalidades**

El cáncer gástrico al ser el cuarto cáncer más común y la segunda causa de muerte por cáncer, se ha convertido en un gran problema de salud pública a nivel mundial. Las tasas de incidencia de cáncer gástrico varían entre las diferentes poblaciones (Figura 1.1), cerca de dos tercios de los cánceres de estómago ocurren en los países en desarrollo. Además, las poblaciones que migran desde áreas con elevado riesgo para esta oncopatología, como Japón, muestran una marcada reducción en el riesgo cuando emigran a regiones de baja incidencia, como Estados Unidos. Por lo que, las generaciones ulteriores adquieren los niveles de riesgo del país hospedero (Crew & Neugut, 2006).

El cáncer gástrico es una enfermedad multifactorial (Correa *et al*, 1975; Correa, 1992; Crew & Neugut, 2006). La marcada variación geográfica, las tendencias en el tiempo, y el efecto migratorio sobre la incidencia del cáncer gástrico, sugiere que factores ambientales o el estilo de vida, son los principales coadyuvantes para la etiología de esta enfermedad (Crew & Neugut, 2006). Entre los factores de riesgo se encuentran la infección por *Helicobacter pylori*, factores de la dieta como: alimentos preservados con sal y nitritos encontrados en las carnes conservadas, la obesidad, y factores menos

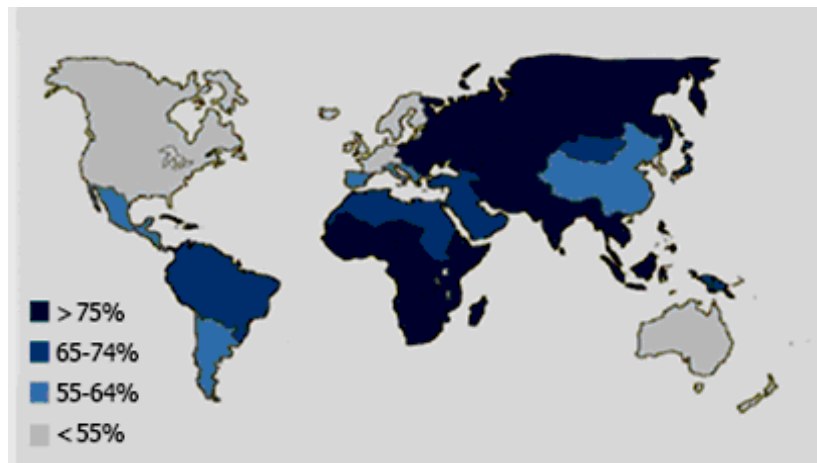
comunes como: la radiación, cirugías gástricas para condiciones benignas, y el virus Epstein-Barr (Crew & Neugut, 2006).



**Figura 1.1** Incidencia mundial del cáncer de estómago en hombres

Tasa anual (mundial) estandarizada por 100 000 habitantes.

Fuente: Crew & Neugut, 2006



**Figura 1.2** Prevalencia mundial de la infección por *H. pylori* en adultos asintomáticos

Fuente: Crew & Neugut, 2006

*H. pylori* es un patógeno gástrico, que coloniza a aproximadamente dos tercios de la población mundial (NCI, 2006). Los países con elevadas tasas de cáncer gástrico típicamente están asociados con una alta prevalencia



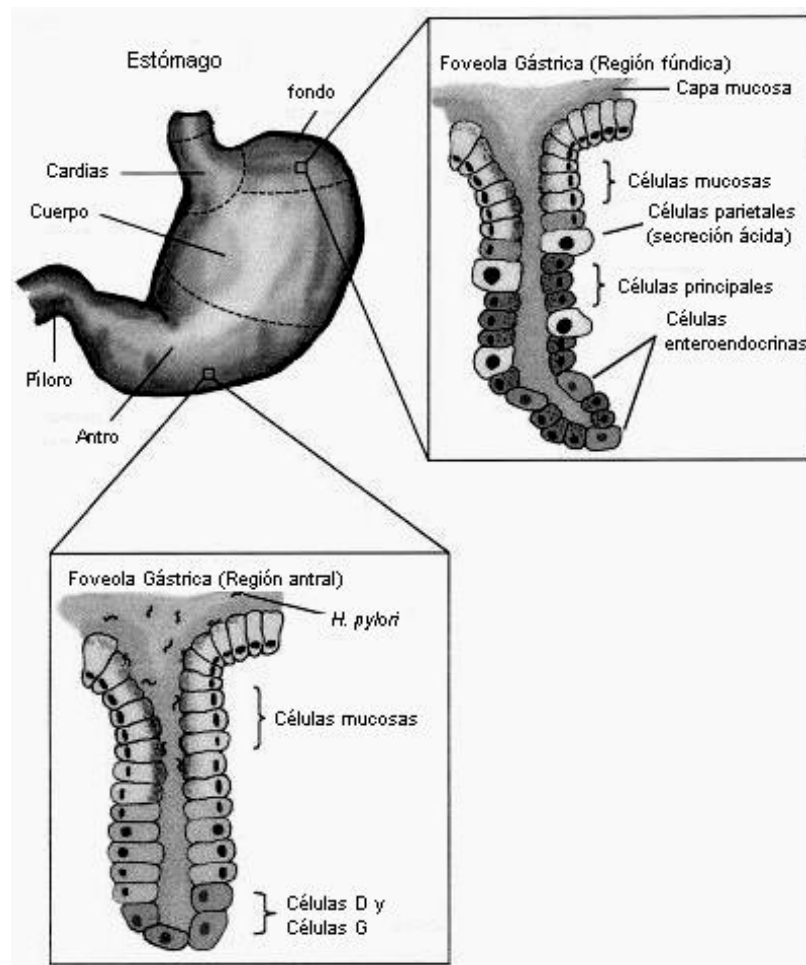
de infección por *H. pylori*, y la declinación en la prevalencia de *H. pylori* en los países desarrollados es paralela a la disminución de la incidencia de cáncer gástrico (Figura 1.2) (Crew & Neugut, 2006). Tendencia evidenciada en nuestro país con la alta prevalencia (93.2%) de *H. pylori* (Sempértregui *et al*, 2007) y la elevada incidencia de cáncer gástrico, estimada en 29 casos por 100 000 habitantes por año (Debets-Ossenkopp *et al*, 2003); oncopatología causante de una alta tasa de mortalidad femenina y masculina, de 10.9% y 13.3%, respectivamente (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2006).

La infección con *H. pylori* esta relacionada a un amplio espectro de patologías, desde gastritis leves hasta úlceras pépticas (Marshall & Warren, 1984), y en algunos individuos conduce al desarrollo de cáncer gástrico (Parsonnet *et al*, 1991). Esta relación ha incentivado un interés considerable, para determinar si el cáncer gástrico puede ser prevenido por la erradicación de *H. pylori*, e investigar los mecanismos por los cuales, esta bacteria extracelular y su respuesta inflamatoria asociada promueven la carcinogénesis (Eguchi & Moss, 2002). Encontrándose que los mecanismos patogénicos vinculados a la infección con *H. pylori*, que acentúan la susceptibilidad del epitelio gástrico para la conversión carcinogénica, y que alteran la expresión génica del epitelio, están relacionados con: la infiltración extensa de leucocitos polimorfonucleares, la densidad bacteriana, y la presencia de factores de virulencia, como: *vacA*, *babA* y *cagA* (Hofman *et al*, 2007). Estudios revelan que, *H. pylori* genotipo *cagA*, se presenta en un alto porcentaje en individuos con altos grados de inflamación gástrica, gastritis atrófica (Kuipers *et al*, 1995; Peek *et al*, 1995), gastritis crónica activa (Asrat *et al*, 2004), altos grados de infiltración de linfocitos y neutrófilos, daño epitelial (Nogueira *et al*, 2001), ulceración péptica (Ching *et al*, 1996) y ulceración duodenal (Cover *et al*, 1995; Hamlet *et al*, 1999; Konráðsson *et al*, 2003). Por lo que, las cepas de *H. pylori* positivas para *cagA* son la causa más probable para el desarrollo del cáncer gástrico (Beales *et al*, 1996; Plummer *et al*, 2007).

#### **1.4.2 El estómago**

El estómago es un órgano en forma de saco que une al esófago con el intestino delgado. Posee una curva interna cóncava hacia la derecha, llamada

*curvatura menor*, y una convexidad externa hacia la izquierda, la *curvatura mayor* (Robbins, 2000).



**Figura 1.3** Representación esquemática de la estructura gástrica.

El estómago está dividido en cinco regiones (cardias, fondo, cuerpo, antro, y píloro). El epitelio gástrico está cubierto por una capa protectora de moco revestido por células epiteliales especializadas. Las foveas gástricas contienen varios tipos de células, incluyendo células secretoras de moco y células enteroendocrinas. La disposición de los tipos de células encontradas en las foveolas gástricas varía entre las diferentes regiones del estómago. La colonización de *H. pylori* principalmente se localiza en el antro, el cual carece de células parietales secretoras de ácido.

Fuente: Mobley, Mendz & Hazell, 2001.

El estómago se divide en cinco regiones anatómicas (Figura 1.3). El *cardias*, un esfínter que une el esófago con el estómago y evita el reflujo del contenido gástrico. El *fondo*, una región en forma de cúpula. El *cuerpo*, una

región que comprende la mayor área del estómago. Y el antro, una región estrecha y separada del duodeno o primera porción del intestino delgado, por el *píloro*, un esfínter muscular. Toda la superficie mucosa del estómago está cubierta por millones de orificios o *fóveas* gástricas (Figura 1.3) que están revestidas por las glándulas, las cuales están constituidas por células especializadas para la secreción de moco y enzimas. Fisiológicamente la característica esencial de la mucosa gástrica es la secreción de ácido clorhídrico, que conjuntamente con las sustancias secretadas por las glándulas gástricas ayudan en el proceso digestivo iniciado con la ingestión de los alimentos (Robbins, 2000).

#### **1.4.2.1 Protección de la mucosa gástrica**

Los mecanismos por los cuales se protege la mucosa gástrica frente a la secreción de ácido y autodigestión son:

- Secreción de moco: Las superficies del estómago y del duodeno poseen una fina capa de moco.
- Secreción de bicarbonato: Las células del epitelio de la superficie del estómago y del duodeno secretan bicarbonato, creando un microambiente de pH prácticamente neutro en las zonas adyacentes a la superficie celular.
- Barrera epitelial: Las uniones íntimas intercelulares proporcionan una barrera, en la que cualquier rotura de ésta va seguida de su restitución inmediata.
- Riego sanguíneo mucoso: La rica vascularización de la mucosa proporciona oxígeno y nutrientes a las células epiteliales (Robbins, 2000).

#### **1.4.3 Patologías gástricas asociadas a la infección por *H. pylori***

Las patologías de la mucosa gástrica pueden ser de naturaleza congénita o ser el resultado de lesiones gástricas, como lo son: la gastritis, la úlcera péptica y los tumores gástricos (Robbins, 2000). Inicialmente se pensó que estas lesiones eran causadas por: el estrés, el consumo excesivo de alcohol, el reflujo biliar e inclusive por el consumo de bebidas calientes y comidas picantes (Dixon, 2001). Sin embargo, no fue hasta 1982, cuando Marshall y Warren identificaron a una bacteria espiral asociada al epitelio

gástrico en una gastritis crónica activa, denominada inicialmente *Campylobacter pyloridis* (Mitchell, 2001), que pudieron dar una explicación etiológica para la gran cantidad de cambios patológicos observados en la mucosa gástrica. Principalmente, al conocer que la gastritis crónica es la vía común por la cual se originan patologías más severas como la ulceración péptica, el carcinoma gástrico, y el linfoma; enfermedades que histológicamente se relacionan con: la inflamación crónica, la atrofia, la metaplasia intestinal y displasia (Dixon, 2001). Hoy por hoy, *Helicobacter pylori*, como es conocida la bacteria actualmente, es un agente etiológico ya establecido para la gastritis crónica y un factor que predispone para las enfermedades de ulceración péptica, el cáncer gástrico, y linfomas tipo MALT (Mitchell, 2001).

#### **1.4.3.1 Patología de la gastritis crónica**

La gastritis se define como la inflamación de la mucosa gástrica; esta inflamación puede ser predominantemente *aguda*, con infiltración por neutrófilos; o *crónica*, con linfocitos, células plasmáticas o ambos (Robbins, 2000). La gastritis crónica se caracteriza por la presencia de alteraciones inflamatorias crónicas en la mucosa, que acaban por producir atrofia y metaplasia epitelial. Las lesiones del epitelio pueden convertirse en displásicas, constituyéndose en precursoras para el desarrollo del carcinoma. La gastritis crónica, es notable por sus distintos subgrupos causales y por los patrones de alteraciones histológicas, variables en distintas zonas del mundo. En los países occidentales, la prevalencia de las alteraciones histológicas indicativas de gastritis crónica, supera el 50% en los últimos decenios de la vida (Robbins, 2000). Etiológicamente, a la gastritis crónica se la ha asociado con:

- Infección crónica por *H. pylori*
- Inmunológica (autoinmunitaria)
- Tóxica, como la asociada al consumo de alcohol y cigarrillos
- Posquirúrgica
- Enfermedades granulomatosas
- Por radiación

De las cuales la asociación etiológica más importante es la infección crónica por *H. pylori* (Robbins, 2000).

#### **1.4.3.1.1 Interacciones entre *H. pylori* y el hospedero que regulan la colonización y patogenicidad de la bacteria**

Una vez que se presenta la infección por *H. pylori* en el tracto digestivo, de inmediato la enfrentan los factores antimicrobianos que existen en las secreciones mucosas, de la cavidad oral y del estómago. Si bien, se ha demostrado que la saliva posee actividad antiviral y antibacteriana, y de hecho algunos estudios han sugerido que la saliva puede también tener una actividad protectora contra *H. pylori*, aún no se ha definido como esta actividad antimicrobiana hace frente a la bacteria; basta decir, que el tiempo de tránsito a través de la cavidad oral es tan breve, que probablemente el mayor desafío para *H. pylori*, es encontrarse en el microambiente gástrico (Wang, Blanchard & Ernst, 2001).

En el estómago, la superposición de la mucosa en el epitelio gástrico provee una “cubierta antiséptica”, que contiene anticuerpos y factores antimicrobianos como la lactoferrina y la lisozima que protege a los tejidos mucosos. Para ayudar a eludir este obstáculo, *H. pylori* expresa moléculas que son mucolíticas. Esta propiedad, junto con la presencia de flagelos, permite a *H. pylori* penetrar en la capa mucosa y situarse adyacente a las células epiteliales (Wang *et al*, 2001).

Si bien, la barrera mucosa proporciona un nivel de protección contra la colonización de microorganismos, el mecanismo fundamental en el estómago que ofrece la protección antimicrobiana es el ácido gástrico. Razón por la cual *H. pylori* ha evolucionado para producir una enzima ureasa, que posee actividad específica en el bajo pH encontrado en el estómago, permitiéndole a la bacteria amortiguar su ambiente adyacente, por conversión de la urea en amoníaco. Esta actividad enzimática se complementa con un complejo mecanismo bioquímico que optimiza la actividad específica de esta enzima. Indiscutiblemente, la presencia de la enzima ureasa que es funcional a un bajo pH representa un paso trascendente en la evolución de *H. pylori*, con el

propósito de permitir la colonización exitosa en el ambiente ácido (Wang *et al*, 2001).

**Cuadro 1.1** Factores de virulencia identificados en *H. pylori*

<i>Factor de virulencia</i>	<i>Efecto</i>
<b>Para la colonización:</b>	
Flagelos	Proporcionan movimientos activos que le permiten penetrar en la capa mucosa
Ureasa	Neutraliza el ácido y mantiene un microambiente neutral
Adhesinas	Anchan a <i>H. pylori</i> en el epitelio
<b>Para el daño tisular:</b>	
Enzimas proteolíticas	La glucosulfatasa degrada la mucina gástrica.
Citotoxina de 120 kDa (CagA)	Esta relacionada con la úlcera y gastritis severas
Citotoxina vacuolizante (VacA)	Daña el epitelio gástrico
Fosfolipasa A	Digiere los fosfolípidos de las membranas celulares
Alcohol deshidrogenasa	Lesiona a la mucosa gástrica
<b>Para la supervivencia:</b>	
Superóxido dismutasa	Destruye el superóxido producido por los leucocitos polimorfonucleares y los macrófagos, lo que impide la muerte de la bacteria.
Catalasa	Impide la fagocitosis y la muerte.
Formas cocoideas	Formas en estado latente, que sobreviven por varios años.
<b>Otros:</b>	
Lipopolisacáridos	Inducen la respuesta inmune del hospedero

Fuente: Percival & Wadström, 2001

Otra característica del microambiente gástrico que puede favorecer la supervivencia inicial de *H. pylori*, es la relativa ausencia de células inmunes e inflamatorias en la mucosa gástrica normal no infectada. La ausencia de estas células efectoras podría proporcionar el tiempo necesario para que *H. pylori* establezca y amplíe una infección persistente (Wang *et al*, 2001). En el Cuadro 1.1 se resumen los factores de virulencia que se han identificado en *H. pylori*, los cuales le permiten a la bacteria sobrevivir en el ambiente extremadamente ácido del tracto gástrico, alcanzar un entorno más neutral en la capa mucosa, y enfrentar a la respuesta inmunitaria humana, dando como resultado su persistencia (Stein *et al*, 2001).

#### **1.4.3.1.2 Características de la gastritis por *H. pylori***

##### **a) Fase aguda**

En un inicio, en la mayoría de los individuos la fase aguda de la infección por *H. pylori* es subclínica. Esta bacteria gram negativa, al estar en la mucosa gástrica se multiplica y se ubica en la proximidad de la superficie de las células epiteliales. Frente a la infección el epitelio responde con: la pérdida del moco y células que lo revisten, y la disminución en la secreción de ácido (hipoclorhidria) que puede tomar varias semanas para que se normalice. Sin embargo, los niveles de ácido permanecen más bajos de lo normal durante el transcurso de la infección, lo cual indica que este es un factor relacionado con la persistencia de la bacteria. En la fase aguda, los factores de virulencia que inicialmente estimulan la respuesta inmune, principalmente la relacionada con la infiltración de polimorfonucleares, son los lipopolisacáridos y adhesinas bacterianas. Sobre las 3 a 4 semanas, en una minoría de individuos, el microorganismo es eliminado por los mecanismos inmunes, no obstante en la mayoría de personas esta respuesta no logra eliminar a la bacteria, por lo que la acumulación gradual de las células inmunes en el sitio de la infección conlleva a una gastritis crónica (Dixon, 2001)

##### **b) Gastritis crónica activa**

La gastritis crónica activa por *H. pylori*, se caracteriza por la acumulación de neutrófilos alrededor y dentro del compartimiento celular, en la

fóvea gástrica dónde se presenta la infección. La liberación de productos perjudiciales por las células inmunes y las bacterias en este sitio destruiría las células madre, arrojando la renovación de las células del epitelio glandular, y consecuentemente conduciría a una pérdida completa de la unidad de la fovea glandular, lo cual se conoce como atrofia (Dixon, 2001).

### **c) Atrofia**

La atrofia se define como la pérdida de tejido glandular por repetidos o continuos daños en la mucosa. La atrofia en la gastritis por *H. pylori* puede deberse directamente a los efectos bacterianos, o ser consecuencia de la respuesta inflamatoria o inmune del hospedero. El daño directo por los productos de amonio puede provocar la destrucción de las células epiteliales, pero es poco probable que este sea un mecanismo importante en la capa glandular como lo es la colonización bacteriana con cepas de *H. pylori* más virulentas; por lo cual, es más posible que estén asociadas con atrofia cepas positivas para la citotoxina y CagA. Dichas cepas son "proinflamatorias", y también podrían conducir a una mayor liberación de agentes potencialmente destructivos como, proteasas y radicales libres de las células inflamatorias (Dixon, 2001).

Con el incremento de la atrofia glandular declina la positividad de la prevalencia de *H. pylori*; principalmente existen dos razones que explican esta pérdida: primero, *H. pylori* solamente coloniza el epitelio gástrico, por lo cual, la bacteria esta ausente en las áreas de metaplasia intestinal completa; y segundo, la bacteria únicamente prospera en un limitado rango de pH condicionado por un ambiente parcialmente ácido. Por lo tanto, la ausencia de *H. pylori* en el estómago atrófico no rechaza su rol, en que su infección sea la causante de la gastritis (Dixon, 2001).

### **d) Metaplasia Intestinal**

La metaplasia se define como un cambio potencialmente reversible, en el cual un tipo de células completamente diferenciadas son remplazadas por otro tipo de células diferenciadas, y por lo general representa un cambio a



células más capaces para soportar un entorno adverso. La metaplasia siempre se asocia con la estimulación anormal del crecimiento, por ejemplo, durante la regeneración debida a una lesión mucosa, por lo que puede ser temporal. Sin embargo, la persistencia de la metaplasia indica que el cambio debe ser hereditario en la división celular, es decir, demuestra la presencia de una alteración a nivel de las células madre, que en última instancia determina el fenotipo celular. Así, la metaplasia intestinal representa un cambio de un fenotipo epitelial gástrico, a un pequeño o gran fenotipo intestinal (Dixon, 2001).

En la gastritis por *H. pylori*, la metaplasia intestinal esta correlacionada significativamente con la edad, es mucho más frecuente en el antro que en el cuerpo, y se la asocia más comúnmente con la úlcera gástrica que con las úlceras pilórica o duodenal. Además, se encuentra con más frecuencia en casos de *H. pylori* positivo que en negativos, a pesar que, los estómagos con una extensa atrofia y metaplasia tienden a convertirse en negativos para la presencia de la bacteria (Dixon, 2001).

#### **e) Displasia**

En las gastritis crónicas de larga evolución, el epitelio desarrolla alteraciones citológicas, tales como variaciones del tamaño, forma y orientación de sus células y aumento del tamaño de los núcleos. Estas alteraciones displásicas pueden ser tan intensas, al punto que constituyen un verdadero carcinoma *in situ*. La displasia de la mucosa gástrica representa la vía común final, a través de la cual se originan los cánceres gástricos de tipo intestinal; debido a que, se conoce que los adenomas gástricos se malignizan y éstos son lesiones que contienen mucosa displásica (Robbins, 2000).

#### **1.4.3.1.3 Patrones de la gastritis por *H. pylori***

##### **a) Gastritis predominantemente antral**

En la mayoría de individuos infectados, por lo menos de los países menos desarrollados, la gastritis por *H. pylori* es en cierta forma, más pronunciada en el antro que el cuerpo. Cuando existe esta diferencia sustancial entre las dos zonas anatómicas del estómago, de tal manera que la

inflamación existente en el cuerpo es mínima y es marcada su participación en el antro, la gastritis es denominada como “predominantemente antral”. Este patrón se encuentra en los pacientes con úlcera duodenal y es un marcador de la diátesis para úlcera duodenal. La relativa resistencia de la mucosa gástrica del cuerpo para la colonización de *H. pylori* y la susceptibilidad de la mucosa duodenal a la ulceración, se explican mejor por la alta concentración local de ácido en el cuerpo y el aumento de la producción de ácido del estómago al duodeno, en individuos con riesgo a ulceración duodenal (Dixon, 2001).

### **b) Gastritis de cuerpo**

En una minoría de los individuos infectados en poblaciones occidentales, se observa un patrón de gastritis predominantemente de cuerpo, estas personas suelen tener una producción baja de ácido. Sin embargo, también en el caso de pacientes con reflujo esofágico que tienen un tratamiento para la supresión sostenida del ácido con inhibidores de la bomba de protones, se produce un incremento de la colonización de *H. pylori* tanto en el cuerpo como en el antro, y un giro de la predominancia de la gastritis, del antro hacia el cuerpo (Dixon, 2001).

#### **1.4.3.2 Patología del cáncer gástrico**

De los tumores malignos que afectan al estómago, el más importante y frecuente es, el carcinoma (90% a 95%). A continuación y por orden de frecuencia, se encuentran los linfomas (4%), los carcinoides (3%) y los tumores malignos de células del estroma (2%). El carcinoma gástrico es una enfermedad extendida por todo el mundo. Es más frecuente en los grupos de menor nivel socioeconómico, y la relación entre varones y mujeres es alrededor de 2:1 (Robbins, 2000).

El carcinoma gástrico puede dividirse en dos grandes subtipos histológicos: (1) los que muestran una morfología *intestinal*, con formación de tumores voluminosos compuestos por estructuras glandulares, y (2) los *difusos*, con un patrón de crecimiento infiltrante y formados por células poco diferenciadas y no cohesivas. La edad media de los pacientes con el tipo intestinal es de 55 años y la relación varón:mujer, 2:1. El tipo difuso afecta a

personas algo más jóvenes (edad media, 48 años), con una relación varón:mujer aproximadamente similar. La caída de la incidencia del cáncer gástrico sólo ha ocurrido en el tipo intestinal, de manera que, en la actualidad, la incidencia de ambos tipos es similar (Robbins, 2000).

**Cuadro 1.2** Factores asociados a una incidencia mayor de carcinoma gástrico

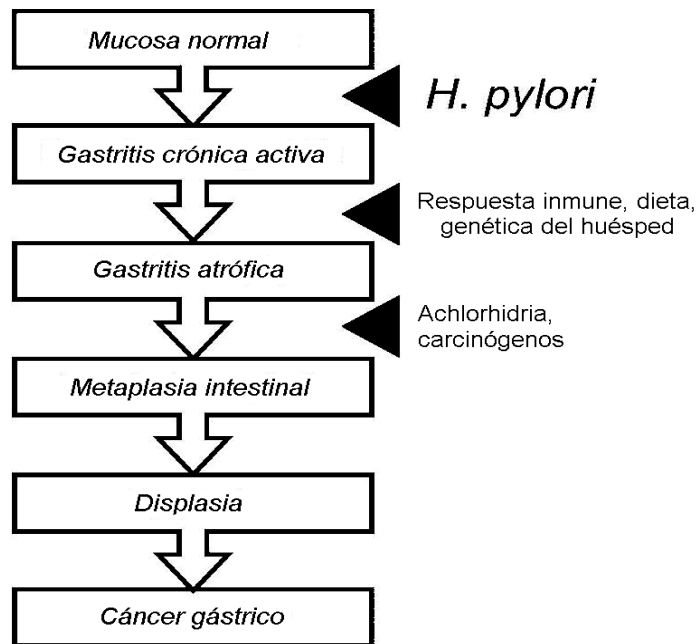
---

<b>Ambientales</b>
Dieta
Nitritos derivados de los nitratos (agua, conservas alimenticias)
Alimentos ahumados y salados, vegetales encurtidos
Escasez de frutas y vegetales frescos
Bajo nivel socioeconómico
Tabaquismo
<b>Factores del hospedero</b>
Gastritis crónica
Hipoclorhidria: favorece la colonización por <i>H. pylori</i>
La metaplasia intestinal es una lesión precursora
Infección por <i>H. pylori</i>
Presente en la mayoría de los carcinomas de tipo intestinal
Gastrectomía parcial
Favorece el reflujo del jugo biliar y alcalino intestinal
Adenomas gástricos
40% tienen cáncer en el momento del diagnóstico
30% tienen cáncer adyacente en el momento del diagnóstico
Esófago de Barrett
Mayor riesgo de tumores de la unión gastroesofágica
<b>Genéticos</b>
Ligero aumento del riesgo en las personas de grupo sanguíneo A
Antecedentes familiares de cáncer gástrico
Síndrome de cáncer hereditario de colon sin poliposis

---

Fuente: Robbins, 2000

En cuanto a la patogenia, los principales factores que influyen en la génesis del cáncer se resumen en el Cuadro 1.2. Sin embargo, dichos factores están más relacionados con el tipo intestinal, ya que los factores de riesgo tipo difuso no han sido aún bien definidos. Parece que el tipo difuso del cáncer surge *de novo*, es decir, sin evolucionar a partir de una displasia (Robbins, 2000). En cuanto a los factores asociados al hospedero, la infección por *H. pylori*, es uno de los más importantes en su génesis (National Institute of Cancer, 2006).



**Figura 1.4** Modelo que representa el papel de *H. pylori* y otros factores en la carcinogénesis gástrica.

Fuente: Kusters *et al*, 2006.

El papel conjunto de *H. pylori* y otros factores en la carcinogénesis gástrica, que se indica en la Figura 1.4 fue sugerida por Correa *et al* (1975) y desde entonces ha sido el apoyo de muchos estudios. La colonización por *H. pylori* induce la respuesta inflamatoria, la gastritis aguda inicial es seguida de gastritis crónica activa, que dura para toda la vida si la infección no es tratada. Sin embargo, los individuos positivos para *H. pylori* en su mayoría ignoran la inflamación, debido a la falta de síntomas clínicos. Esta respuesta inflamatoria se caracteriza por una afluencia de neutrófilos, células mononucleares, y

células helper 1 (Th1), normalmente destinadas a la remoción de infecciones intracelulares. Sin embargo, *H. pylori* no es un patógeno intracelular, y por lo tanto la respuesta de las Th1 resulta en daños a las células epiteliales y no en la eliminación de *H. pylori*. Así, la progresiva presencia de *H. pylori* provoca una respuesta proinflamatoria a lo largo de toda la vida, dando inicio a la cascada histológica descrita en la Figura 1.4. La constante producción de especies reactivas del oxígeno derivadas de la continua inflamación dan lugar al daño del DNA, de esta manera, se considera necesaria la inducción de múltiples mutaciones para el inicio de la cascada para el cáncer gástrico (Figura 1.4) (Kusters, van Vliet, & Kuipers, 2006).

#### **1.4.3.3 Patología de la ulceración péptica**

La úlcera péptica es una lesión crónica, que afectan a cualquier porción del aparato gastrointestinal expuesta a la acción agresiva de los jugos pépticos y ácido gástrico, y que se debe al desequilibrio entre los mecanismos de defensa de la mucosa gástrica y las fuerzas nocivas (especialmente la infección por *H. pylori*) (Robbins, 2000). Prácticamente todos los pacientes con úlcera duodenal y alrededor del 70% de los que tienen úlceras gástricas están infectados por *H. pylori*. Además, el tratamiento con antibióticos de esa infección favorece la curación de las úlceras y tiende a evitar su recidiva. Por tanto, se ha prestado gran interés a los posibles mecanismos por los que este microorganismo espiral rompe el equilibrio de las defensas de la mucosa (Robbins, 2000). Entre las distintas propuestas se encuentran las siguientes:

- *H. pylori* secreta ureasa, que genera amoníaco libre, y una proteasa, que degrada las glucoproteínas del moco gástrico.
- Los neutrófilos atraídos por *H. pylori* liberan mieloperoxidasa, que produce ácido hipocloroso, el cual en presencia del amoniaco, genera monocloramina. Estos agentes pueden destruir las células del epitelio.
- Además de la elaboración de enzimas, los antígenos de *H. pylori* atraen a las células inflamatorias hacia la mucosa. La inflamación crónica de ésta facilita la acción lesiva del ácido.

- Por último, parece que la lesión de la mucosa permite la salida de los elementos nutritivos del tejido hacia el microambiente superficial, manteniendo así el crecimiento de los bacilos.

En realidad, sólo del 10 al 20% de las personas infectadas por *H. pylori* en todo el mundo desarrollan una úlcera péptica. Por tanto, el enigma fundamental es por qué unas personas son susceptibles y otras no. Aunque se conoce la relación existente entre la infección por *H. pylori* y las úlceras gástricas y duodenales, las interacciones que conducen a la formación de dichas úlceras siguen siendo motivo de investigación (Robbins, 2000).

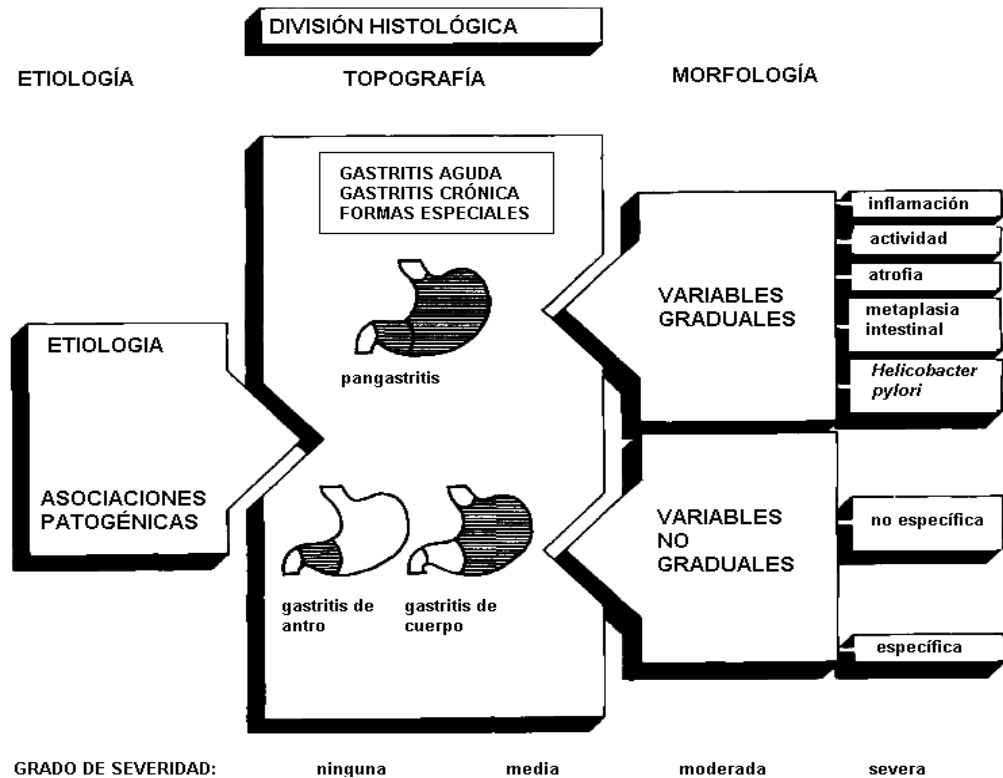
#### **1.4.3.4 Sistemas para la clasificación de patologías de la mucosa gástrica**

Un número cada vez mayor de estudios documentan la patología de la gastritis, su relación con *H. pylori* y la respuesta a agentes terapéuticos. En la actualidad, se usa una gran variedad de sistemas de clasificación, lo cual hace difícil comparar estos resultados. Por lo tanto, fue ineludible la producción de un sistema, que aportando nuevos conocimientos, tuviera una amplia aceptación. Indistintamente una propuesta de clasificación, para conseguir una amplia aceptación, debe ser simple, fácil de aplicar, flexible, correlacionarse con las clasificaciones existentes, sensibles para el monitoreo de la terapia y contener la información que es destinada a los gastroenterólogos y analistas clínicos, como también a los investigadores. El sistema de clasificación Sydney fue diseñado cumpliendo con estos requerimientos (Price, 1991).

El sistema Sydney incorpora una combinación lógica de la etiología, topografía y morfología (Figura 1.5), se basa en gran medida en muchos elementos claves de las clasificaciones predecesoras. La sección de morfología incluye un detalle histológico y una fórmula común para el grado de severidad de las lesiones, desde el patrón básico hasta la distribución topográfica de la gastritis, estos datos constituyen los elementos descriptivos de la mayoría de los informes de patología (Price, 1991).

Una característica fundamental del sistema Sydney es el estándar de la escala de clasificación, aplicable a un número seleccionado de variables morfológicas. Contiene un sistema de tres grados: leve, moderado y severo,

como criterio general, donde cada grado representa un incremento en la severidad de aproximadamente un tercio. Las variables de clasificación son: inflamación, actividad, atrofia, metaplasia y densidad de organismos presuntos *H. pylori* (Figura 1.5) (Price, 1991).



**Figura 1.5** Secciones de la división histológica del sistema Sydney

Fuente: Price, 1991.

La presencia o ausencia de *H. pylori* es un importante aspecto de la clasificación, que esta siendo adoptado como la etiología más común de la gastritis crónica. Como directriz, una colonización severa es la presencia de grandes grupos de organismos en más de dos tercios de la superficie de mucosa examinada. Por el contrario, una colonización media es la presencia de organismos individuales o pequeño grupos, que cubre menos de un tercio de la superficie mucosa, y la colonización moderada esta entre estas dos. Es necesario saber si el paciente ha recibido una terapia específica para la úlcera péptica, en las cuatro semanas antes de la toma de la biopsia, debido a que estos pueden reprimir a los microorganismos y ocultar la etiología de cualquier gastritis presente (Price, 1991).

#### **1.4.4 *Helicobacter pylori***

##### **1.4.4.1 Epidemiología**

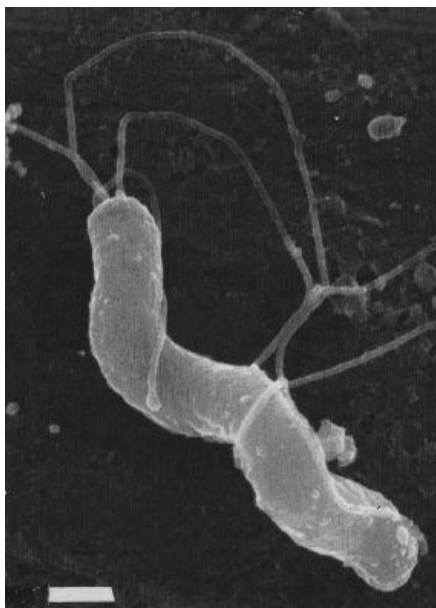
La infección por *Helicobacter pylori* esta ampliamente extendida, se estima que aproximadamente dos tercios de la población mundial hospedan a la bacteria (NCI, 2006). No obstante, existe una notable diferencia en su prevalencia dentro y entre países. Los estudios epidemiológicos indican que, las poblaciones de países en desarrollo presentan una mayor prevalencia en comparación con las de los países desarrollados, divergencia que ha sido atribuida principalmente a la tasa de adquisición de la bacteria en la niñez, los niños de países en vías de desarrollo tienen una prevalencia de *H. pylori* del 13 al 60%; mientras que, en los de países desarrollados la tasa es baja, del 0 al 5%, principalmente debido al progreso que ha tenido estos últimos en relación a la asistencia médica, el saneamiento y las condiciones de vida de sus habitantes (Mitchell, 2001).

Además, se sugiere que la transmisión de *H. pylori* se da significativamente entre los miembros de la familia, las investigaciones han encontrado que el riesgo de que un niño adquiera la bacteria es de ocho veces si la madre esta infectada, y de cuatro veces si el padre es el infectado. Las vías de transmisión son aún motivo de controversia, se ha sugerido que éstas pueden ser oral – oral o fecal – oral. Asimismo, la bacteria puede encontrarse en reservorios de tipo ambiental, se ha descrito al agua contaminada como una potencial fuente para la infección por *H. pylori* (Mitchell, 2001).

##### **1.4.4.2 Morfología**

*Helicobacter pylori* es una bacteria gram negativa, no formadora de esporas, *in vitro* y en las condiciones óptimas, es una bacteria con forma de S con 1 a 3 giros, de 0.5 x 5 µm de longitud, recubierta con un mechón de 5 a 7 flagelos polares (Figura 1.6); siendo ésta morfología correlacionada con la máxima motilidad *in vitro*. Su denso citoplasma contiene material nucleico y ribosomas (Rourke & Bode, 2001). En todos los cultivos pretéritos o en los expuestos a la atmósfera, las células pueden convertirse en cocoideas (Solnick & Vandamme, 2001).





**Figura 1.6** *H. pylori* en forma de S recubierto con cinco a siete flagelos polares.

Emisión de campo SEM, barra = 0.5  $\mu\text{m}$ .

Fuente: Mobley, Mendz & Hazell, 2001.

#### 1.4.4.3 Genoma

El tamaño de los dos genomas secuenciados de *H. pylori* es de aproximadamente 1.7 Mpb, con un contenido de G+C del 35 a 40%. El genoma de la cepa de *H. pylori* 26695 contiene 1 587 genes, mientras que el genoma de la cepa J99 contiene 1 491 genes. Ambos genomas contienen dos copias de los genes de *rRNA* 16S, 23S y 5S. Muchas cepas llevan uno o más plásmidos, que no parecen portar genes de resistencia a antibióticos o genes de virulencia (Kusters, van Vliet, & Kuipers, 2006).

En contraste con otras bacterias patógenas que son altamente clonales (como, *Shigella dysenteriae* y *Mycobacterium tuberculosis*), *H. pylori* es genéticamente heterogénea, aludiendo una falta de clonalidad. Lo que se traduce en que cada individuo positivo para *H. pylori* porta una cepa distinta, aunque las diferencias dentro de los familiares pueden ser pequeñas. La heterogeneidad de su genoma es posiblemente una adaptación de *H. pylori* a las condiciones gástricas del hospedero; se cree que se produce a través de varios métodos de rearrreglos del DNA, y por la delección y la introducción de

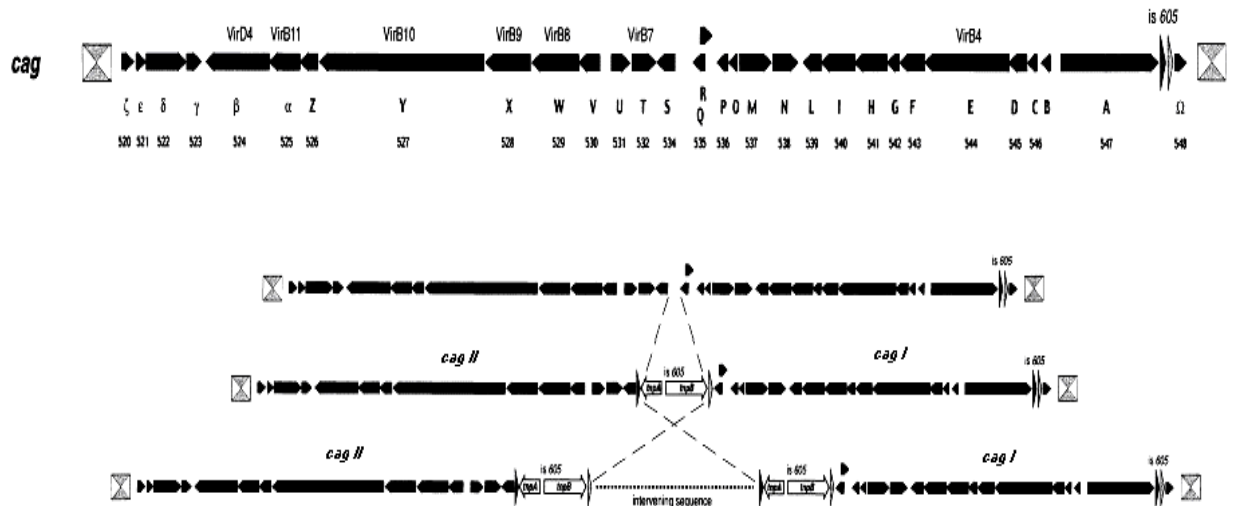
secuencias foráneas. Estas últimas suelen tener un contenido aberrante de G+C, y a menudo, portan genes implicados en la virulencia. Un ejemplo notable de esto en *H. pylori* es la PAI *cag*, pero también se ha propuesto que la plasticidad de otras regiones desempeñan un rol la patogénesis de la infección por *H. pylori* (Kusters *et al*, 2006).

#### 1.4.4.3.1 Isla de patogenicidad *cag* de *H. pylori*

Para que una bacteria huésped evolucione y se convierta en patógena se requiere un tiempo considerable. No obstante, la evolución bacteriana no es solamente un proceso continuo, puede ocurrir por la dotación de segmentos de DNA mediante un proceso de transferencia horizontal. Este término describe la adquisición de DNA a partir de una fuente desconocida, como un fago, y su posterior integración en el cromosoma; o mediante la inserción de un gran plásmido por recombinación homóloga. Estos bloques de DNA recién integrados designados como “islas”, pueden codificar una variedad de funciones, como: sistemas de absorción de hierro, enzimas metabólicas, o adhesinas específicas de células. Las islas de patogenicidad (PAIs) son identificables por su inusual contenido de G+C, su inestabilidad, su integración en loci específicos (por ejemplo, en genes de *tRNA*), y por la presencia de repeticiones en las regiones flanqueantes (Stein *et al*, 2001).

La isla de patogenicidad (PAI) de *H. pylori*, es una región de 40 kb, fue originalmente denominada *cag* (cytotoxin-associated gene), debido a que se pensó que estaba asociada con la expresión de la toxina vacuolizante (VacA). Sin embargo, más tarde se demostró que ambos factores, VacA y PAI, son independientes uno del otro, a pesar que las cepas *cag* negativas no suelen expresar VacA. A nivel genético, la isla de patogenicidad *cag* (PAI *cag*) esta flanqueada por una repetición de 31 pb, que contiene el sitio de recombinación. El módulo también forma el *core* de los extremos derecho e izquierdo de una secuencia común de inserción en *H. pylori*, el elemento IS605, dependiendo de la cepa, el número de secuencias de inserción se relaciona con la PAI *cag*. Sin embargo, frecuentemente la PAI *cag* se divide en las subregiones, *cagI* y *cagII*, que se interrumpen por dos elementos IS605, entre estas dos secuencias de inserción, hay DNA bacteriano presente. Las cepas tipo I son las que contienen

a *cagA* y por lo tanto son las más virulentas, que las tipo II en donde *cagA* esta ausente. La inestabilidad genética adicional de *cag* es resultado de las supresiones y deleciones, que en algunos casos puede llevar a la pérdida de la isla (Stein *et al*, 2001).



**Figura 1.7** Organización genética de la isla de patogenicidad *cag*.

Las fases de lectura abierta (ORFs) dentro de los 40 Kb de PAI *cag* están representadas con flechas, con denominaciones del gen *cag* (solo letras) abajo y con los nombres de los homólogos arriba. Las designaciones de los genes en el genoma total aparecen con un número de tres dígitos. A continuación se muestran tres arreglos alternativos de la PAI *cag* en otras tres cepas de *H. pylori*. La denominación *is 605*, se refiere a una secuencia de inserción; *tnpA*, transposón A; *tnpB*, transposón B.

Fuente: Mobley, Mendz & Hazell, 2001.

El DNA de la PAI *cag*, tiene 31 fases de lectura abierta (ORFs) (Figura 1.7), una de las cuales codifica para el antígeno inmunodominante CagA (cytotoxin-associated gene A antigen), localizado en el extremo 3' de la isla. CagA fue identificada como la primera proteína de la PAI y como un importante factor de virulencia. El tamaño molecular de *cagA* es variable y depende del número de repeticiones, de un motivo de 102 a 108 pb, que se repite con cepas específicas. A nivel proteico, la ausencia de repeticiones corresponde a un peso molecular de 128 kDa; mientras que cada repetición hasta un máximo de cuatro repeticiones, modifica el peso molecular de CagA por 4 kDa aproximadamente (Stein *et al*, 2001).

La comparación de cepas aisladas de pacientes con cáncer gástrico, con diferencias en el número de repeticiones, sugiere que las cepas con más repeticiones están asociadas con niveles más altos de anticuerpos CagA y grados más severos de atrofia. Las repeticiones tienen una estructura modular, que es el resultado de duplicaciones y rearrreglos de DNA de la región central del gen *cagA*. Sin embargo, el número, secuencia, y posición de los módulos puede variar, dependiendo de la región geográfica de donde se aisló la cepa. Estas diferencias locales, parecen ser el resultado de los frecuentes eventos de recombinación genética, y de la acumulación de mutaciones en el gen *cagA* que fueron conservadas en la segregación geográfica. Además de CagA, una característica esencial de la PAI *cag* es que codifica un sistema de secreción tipo IV específico para *Helicobacter* (Stein *et al*, 2001)

#### **a) Sistema de secreción tipo IV y sus funciones**

Un sistema de secreción es el mecanismo que usan los patógenos, para exportar las proteínas bacterianas de virulencia desde el citoplasma bacteriano hacia la célula hospedera. Las moléculas exportadas, llamadas efectores, interfieren con la gran variedad de vías de señalización básica de la célula hospedera. Los efectores son especies específicas. El sistema de secreción tipo IV, es capaz de trasladar proteínas de virulencia a la célula hospedera, al igual que el sistema de secreción tipo III usado por muchos patógenos gram negativos, sin embargo es importante señalar que el origen evolutivo de los dos sistemas es diferente (Stein *et al*, 2001).

El sistema tipo III probablemente evolucionó de un sistema flagelar, y los sistemas tipo IV se originaron a partir de un mecanismo de conjugación; mientras que los flagelos son organelos de la motilidad, los sistemas de conjugación permiten el intercambio de DNA entre bacterias. Sin embargo, ambos sistemas también tienen importantes características en común; se cree que ambos pueden transportar proteínas a través de un complejo canal, directamente a través de las membranas bacterianas interna y externa, al citoplasma de la célula hospedera. Además estos sistemas usan chaperonas o moléculas similares a la chaperonas, para estabilizar los efectores y dinamizar la exportación de proteínas por hidrólisis de ATP; su polimerización es

transitoria, dado que se induce por contacto celular. Sin embargo, la variedad de sustratos y en sí el mecanismo de secreción, parecen ser menos uniformes para el sistema tipo IV. Si bien, los sistemas tipo III exportan exclusivamente proteínas monoméricas, la maquinaria del tipo IV puede exportar multisubunidades y complejos nucleoproteicos (Stein *et al*, 2001).

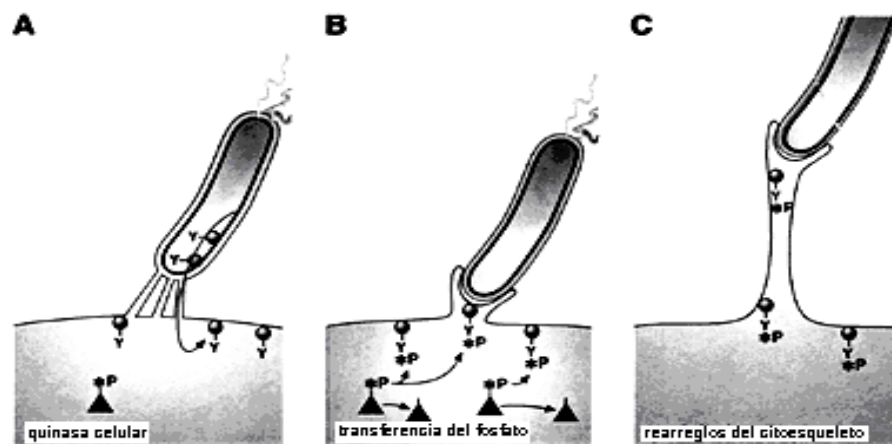
Hasta ahora, el grupo de los agentes patógenos que codifican un sistema de secreción tipo IV está compuesto por cinco especies: *Agrobacterium tumefaciens* (*virB* y *virD4*), *Bordetella pertussis* (*ptf*), *Legionella pneumophila* (*icm/dot*), *Brucella suis* (*virB*), y *H. pylori* (*cag*) (Stein *et al*, 2001).

### **b) Funciones patogénicas de la isla de patogenicidad *cag***

La isla de patogenicidad *cag* induce en la célula hospedera las vías de señalización para la traducción, con la finalidad que éstas contribuyan a la virulencia de *H. pylori*. En actualidad, se distinguen dos tipos de mecanismos que usa *H. pylori* para inducir estas vías de señalización, el uno depende del antígeno inmunodominante de *H. pylori*, la proteína CagA; mientras que el otro es independiente de CagA (Stein *et al*, 2001).

Para el mecanismo asociado a CagA, varios estudios mutacionales han evidenciado que es necesario un sistema de secreción tipo IV que permite que la exportación de CagA. En el interior de la célula hospedera, CagA se fosforila mediante un residuo de tirosina, de una quinasa celular aún no identificada (Figura 1.8). Aunque la función de CagA a nivel molecular aún se desconoce, se sugiere que esta involucrada en (1) cambios de la morfología de la célula hospedera (Stein *et al*, 2001) y (2) en la inducción de cambios en el estado de fosforilación de distintas proteínas celulares (Odenbreit *et al*, 2000). (1) Los cambios morfológicos constituyen en rearrreglos del citoesqueleto de actina, que dan lugar a la formación de estructuras tipo cáliz o pedestales debajo de la bacteria que está adherida a la mucosa, a nivel molecular estos cambios están mediados por la activación de complejos proteicos vía GTPasas que permiten la polimerización de la actina, similar comportamiento también se ha observado en otras bacterias como: *Listeria* sp., *Shigella* sp. y *Escherichia coli*, las cuales también causan rearrreglos de los filamentos de actina en la célula hospedera

(Segal, Falkow & Tompkins, 1996; Stein *et al*, 2001). (2) En cuanto a los cambios en la fosforilación de la célula hospedera, la translocación de CagA activa GTPasas de la familia Rho, las cuales a su vez activan las cascadas de las quinasas MAP (mitogen-activated protein), quinasas que también se translocan al núcleo, donde fosforilan a factores de transcripción que inician las vías requeridas para el crecimiento y la diferenciación celular (Stein *et al*, 2001). Estudios ha descrito que, las cepas positivas para la *cagA*: afectan a la proliferación de las células gástricas epiteliales (Cabral *et al*, 2007), trastorna la diferenciación epitelial (Bagnoli *et al*, 2005), y atenúan la apoptosis *in vivo* (Rokkas *et al*, 1999). Por lo que, el hecho que CagA interfiera en el ciclo celular, ofrece una posible explicación para el aumento del cáncer gástrico debido a la infección por cepas positivas para CagA (Stein *et al*, 2001), especialmente cuando se conoce que la fosforilación es un mecanismo celular de control para la mayoría de eventos intracelulares, y es el principal en la regulación de la organización del citoesqueleto durante el crecimiento y la diferenciación de la célula (Hunter, 1995).



**Figura 1.8** Modelo para los eventos de señalización mediados por *Helicobacter pylori*.

(A) CagA, esquematizada como un círculo con un residuo de tirosina, Y, es translocada por sistema de secreción tipo IV, representado como canales. (B) Los triángulos negros representan las quinasas celulares que fosforilan a CagA en el residuo de tirosina (el grupo fosfato está indicado por \*P). Las señales emitidas por CagA inducen la formación de pedestales. En (C) los pedestales se alargan.

Fuente: Stein, Rappuoli & Covacci, 2000.

El segundo mecanismo, que es independiente de CagA, induce a las células epiteliales gástricas para que secreten interleuquina 8 (IL-8). Mediante análisis mutacionales se demostró que aunque la mayoría de los genes de la isla de patogenicidad *cag* son necesarios para incrementar la secreción de IL-8, los mutantes para los genes *cagA*, *cagF*, *cagN*, y *virD4* no alteran el nivel de secreción de la IL-8, a nivel molecular esta inducción también es mediada por GTPasas que activan las cascadas de las quinasas MAP, que subsecuentemente activan a otras quinasas que se unen al promotor de la IL-8 e inducen la transcripción de la IL-8. La IL-8 es la principal quimioquina causante de la infiltración de neutrófilos en el sitio infectado, lo que da como resultado un fuerte proceso inflamatorio en la mucosa gástrica. Dado que *H. pylori* es uno de los pocos patógenos que infectan crónicamente al hospedero, esta inflamación continua puede ser un factor importante para el desarrollo de la enfermedad gástrica (Stein *et al*, 2001).

Recientes observaciones caracterizaron la implicación de la PAI *cag* en la fagocitosis de *H. pylori*. Estos estudios indicaron que, fagocitos mononucleares capturaron a *H. pylori*, pero que las bacterias internalizadas no murieron si se utilizaron para la infección cepas tipo I (contienen CagA); en lugar de ello, *H. pylori* indujo una fusión de los fagosomas que condujo a la formación de grandes vacuolas, estas estructuras también llamadas megasomas, contenían múltiples organismos que fueron viables durante por lo menos 24 horas; además, se observó que este proceso no fue inducido por mutantes *cag* negativos (Stein *et al*, 2001). En otro estudio, el sistema de secreción tipo IV y la biosíntesis de una nueva proteína, pero no CagA, se requirió para bloquear la fagocitosis mediada por los leucocitos polimorfonucleares y monocitos, y para evitar la internalización de *H. pylori*; lo que sugiere que CagA no es la única molécula que se inyecta en la célula hospedera, sino que la PAI *cag* codifica otros factores que también son exportados y pueden participar en la respuesta antifagocítica (Stein *et al*, 2001).

La función de la PAI *cag* en *H. pylori* y su asociación con las patologías gástricas ha sido objeto de controversia desde su descubrimiento en 1993. Se

han realizado estudios con resultados clínicos diferentes, para probar si la presencia de la PAI *cag* está relacionada con la úlcera péptica o cáncer gástrico. Frecuentemente, estos estudios se han basado en amplificaciones del gen *cagA* por PCR, es decir, han usado a *cagA* como un marcador para la PAI *cag* (Stein *et al*, 2001).

#### **1.4.4.3.2 Importancia de la genotipificación de *H. pylori***

Al ser *H. pylori* un patógeno de alta prevalencia en el ser humano y de distribución mundial, los métodos para la tipificación de cepas son necesarios para alcanzar una mejor comprensión de su historia natural, epidemiología, e implicaciones clínicas (Owen, Taylor, Wang & van Doorn, 2001). La información del tipo de cepa es clave para una serie de áreas como:

- Monitoreo de los efectos de la terapia y procedimientos de intervención
- Pistas de un ancestro clonal y común, de las cepas en todo el mundo que podrían ser pertinentes para el diseño de vacunas
- Asociaciones de la enfermedad con un determinado tipo de cepa
- Estudios de la infección en modelos animales
- Relaciones entre el tipo de cepa y la resistencia a medicamentos
- Investigación de las vías de transmisión
- Identificación de las principales cepas de referencia.

La deriva genética entre las cepas podría facilitarse durante la transmisión, cuando las células de *H. pylori* son expuestas al estrés ambiental. Bajo ciertas condiciones, como el pH ácido y el estrés oxidativo, las células sufren más daño de su DNA, lo que facilita la mutación y recombinación; estas variaciones en algunos loci de los genes se presentan para permitir la supervivencia de la bacteria, y así algunos subtipos podrían ser más adaptables que otros en un nicho particular (Owen *et al*, 2001).

#### **a) Variación geográfica de los genotipos de *H. pylori***

La comunicación globalizada podría dar lugar a una rápida diseminación de las bacterias que se transmiten horizontalmente, de forma que la bacteria epidémica puede distribuirse a nivel mundial en cortos periodos de



tiempo. Por el contrario, los agentes patógenos de transmisión vertical, dentro de las familias se dispersarán lentamente como las migraciones humanas entre las zonas geográficas; traduciéndose en una diversidad biogeográfica que refleja la población originalmente fundadora, que por primera vez se introdujo en zonas específicas. Aunque, la diversidad biogeográfica aún no han sido investigada ampliamente para ningún patógeno bacteriano, las diferencias biogeográficas para *H. pylori* pueden indicar diferencias en la susceptibilidad genética o dieta de los humanos residentes en diferentes áreas (Suerbaum & Achtman, 2001).

Los análisis de la virulencia asociada al gen *cagA* en China y los Países Bajos, han encontrado diferencias en las familias secuenciadas; y más estudios de las cepas acopiadas de diferentes regiones, han confirmado que los alelos *cagA* de Asia oriental difieren de las cepas aisladas en Europa, América, África, o India, las cuales forman un grupo homogéneo para este gen. La segmentación geográfica también fue observada para dos fragmentos de *vacA*, denominados secuencia señal (*s*) y región media (*m*). También se han descrito sobre diferencias en las familias de alelos para la región *m* de *vacA*, que son distintos en Europa/América, Asia oriental e India (Suerbaum & Achtman, 2001).

La diversidad geográfica de los genotipos de *H. pylori* podría también revelar la historia de los humanos hospederos, y el análisis de las colecciones más grandes de cepas podría correlacionarse con la historia de las migraciones humanas. Las pruebas iniciales en apoyo a esta hipótesis, se realizaron en cepas de españoles, peruanos, y guatemaltecos ladinos (mezcla de ascendencia europea y amerindia), las cuales poseían patrones de RFLP<sup>4</sup> similares para un locus de la isla de patogenicidad *cag* y diferían notablemente de las cepas de Asia oriental (Suerbaum & Achtman, 2001).

#### **1.4.4.4 *Helicobacter pylori* genotipo *cagA* positivo**

El gen asociado a la citotoxina (*cagA*) esta presente en aproximadamente el 50% a 70% de las cepas de *H. pylori*, y se considera un

---

<sup>4</sup> RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism, por sus siglas en inglés

marcador para la presencia de la isla de patogenicidad de 40 kb (Owen *et al*, 2001). Peculiarmente, las biopsias de pacientes con enfermedades gástricas severas incluyendo gastritis crónica activa, úlcera péptica, linfoma, y el cáncer gástrico contienen el gen *cagA* en más del 90% de todos los casos, estableciéndose una correlación directa de la presencia del gen *cagA* con la enfermedad (Stein *et al*, 2001). No obstante, aunque esta asociación se da en la mayoría de las poblaciones, en las de Asia, dónde prácticamente todas las cepas de *H. pylori* son *cagA* positivas, la asociación entre la positividad de *cagA* y la enfermedad es mucho más débil o incluso no está presente (Owen *et al*, 2001). Además, se ha descrito sobre la importancia de la detección de las cepas *cagA* en las distintas partes anatómicas del estómago, especialmente por dos razones: (1) debido a que se ha encontrado que en los casos de colonización con cepas *cagA* negativas, la infección se observa principalmente en el gel mucoso o en las áreas próximas a la superficie apical de las células epiteliales; mientras que en los casos de colonización con cepas *cagA* positivas, se ha visto que la bacteria esta en mayor contacto íntimo con el epitelio, en la vecindad de las células epiteliales o en los espacios epiteliales intercelulares (Camorlinga-Ponce, Romo, González-Valencia, Muñoz & Torres, 2004). Y (2) porque en una infección una mezcla de cepas de *cagA*+ y *cagA*- pueden estar presentes en un mismo individuo (Owen *et al*, 2001).

#### **1.4.4.4.1 Genotipificación basada en el loci *cagA***

La mayoría de cepas *cagA*+ contienen una PAI *cag* adyacente, en algunas cepas, como se mencionó anteriormente, la isla esta dividida en un segmento derecho (*cag I*) y en un segmento izquierdo (*cag II*) por la secuencia de inserción IS605, aunque también hay cepas que contienen solamente una parte de la PAI *cag*. Los estudios iniciales de secuenciación realizados para *cagA*, compararon un número limitado de cepas de *H. pylori*, e indicaron que la parte 5' de *cagA* es más conservada, que la mitad y el extremo 3' del gen; sin embargo, la diversidad del extremo 5' del gen *cagA*, fue estudiada con más detalle por análisis de secuenciación directa, en cepas de diversas regiones geográficas. Estos análisis filogenéticos, revelaron la existencia de por lo menos dos tipos distintos de *cagA*, una variante fue encontrada exclusivamente en cepas de Europa, Estados Unidos, y Australia, mientras que una nueva

variante fue encontrada en cepas de Asia oriental (Owen *et al*, 2001). La capacidad de ser fosforilada la tirosina difiere entre las variantes de *cagA*, aunque aún no se conoce la importancia biológica de esta observación, no obstante, las diferencias biogeográficas potencialmente pueden estar asociadas con la selección debida a diferencias genéticas entre las poblaciones humanas (Suerbaum & Achtman, 2001)

#### 1.4.4.4.2 Estatus del genotipo *cagA* de *Helicobacter pylori* en poblaciones de diferentes países

En el Cuadro 1.3 se muestra la prevalencia del genotipo *cagA* de *H. pylori* en algunos países, se indica: el país, el número de cepas analizadas, el porcentaje (en orden creciente) de *H. pylori cagA+* encontrado y la referencia del estudio (en orden cronológico).

**Cuadro 1.3** Prevalencia del genotipo *cagA+* de *H. pylori* en poblaciones de diferentes países

<i>País</i>	<i>Cepas analizadas (n)</i>	<i>H. pylori cagA+ (%)</i>	<i>Referencia del estudio</i>
Italia	44	22.9	Rugge <i>et al</i> , 1999
	74	46.0	Farinati <i>et al</i> , 2003
Israel	98 <sup>A</sup>	25.5	Benenson <i>et al</i> , 2002
Jordania	110	26.4	Nimri, Matalka, Bani & Ibrahim, 2006
Chile	50	38.0	Martínez <i>et al</i> , 2001
	53	49.1	Araya <i>et al</i> , 2004
	66	24.2	García <i>et al</i> , 2006
Países Bajos	58	41.0	Kuipers <i>et al</i> , 1995
Francia	258	51.0	Bommelaer <i>et al</i> , 2001
Venezuela	66	51.0	Perrone <i>et al</i> , 2005
España	-	55.0	Gómez <i>et al</i> , 1999
Estados Unidos	25	56.0	Peek <i>et al</i> , 1995
	4019	22.9	Cho <i>et al</i> , 2005
Portugal	192	60.4	Nogueira <i>et al</i> , 2001

Costa Rica	43	67.4	Occhialini <i>et al</i> , 2001
Irán	135	67.4	Jafarzadeh, Rezayati & Nemati, 2007
Nigeria	70	68.0	Smith <i>et al</i> , 2004
Turquía	345	68.1	Saruç <i>et al</i> , 2002
	108	97.2	Serin <i>et al</i> , 2003
	65	78.0	Saribasak, Salih, Yamaoka & Sander, 2004
	93	73.6	Erzin <i>et al</i> , 2006
	121 <sup>A</sup>	74.4	Sökücü <i>et al</i> , 2006
Bélgica	96	68.7	Cover <i>et al</i> , 1995
Reino Unido	108	69.0	Owen <i>et al</i> , 1994
	161	68.0	Warburton <i>et al</i> , 1998
	42	69.0	Dundon, Marshall, O'Moráin & Smyth, 2000
	455	53.0	Anderson <i>et al</i> , 2007
Brasil	75	71.0	Rota, Pereira-Lima, Blaya & Beyer, 2001
	138	65.0	Godoy <i>et al</i> , 2003
	57 <sup>A</sup>	66.7	Gatti, de Lábio, da Silva, Smith & Payão, 2006
Estonia	66	71.0	Maaroos <i>et al</i> , 1999
	156	87.0	Andreson <i>et al</i> , 2002
	235 <sup>A</sup>	46.0	Vorobjova <i>et al</i> , 2000
Grecia	38	73.6	Rokkas <i>et al</i> , 1999
	62	77.4	Apostolopoulos <i>et al</i> , 2002
Alemania	65	73.8	Rudi <i>et al</i> , 1998
México	261	78.9	Torres, Camorlinga-Ponce,
	130 <sup>A</sup>	46.9	Perez-Perez, Muñoz & Muñoz, 2002
	50	64.0	Garza, Bosques-Padilla, Tijerina-Menchaca, Perez-Perez, 2006

Etiopía	273	79.0	Asrat <i>et al</i> , 2004
Perú	17	82.4	Zamudio <i>et al</i> , 2002
Argentina	100	84.0	Catalano <i>et al</i> , 2001
	150	30.0	Mattana <i>et al</i> , 2007
Singapur	105	86.6 – 90.2	Zhenga, Huaa, Yeohb & Hoa, 2000
Japón	68	90.0	Maeda <i>et al</i> , 1998
Colombia	178	90.4	Nogueira <i>et al</i> , 2001
	135	63.7	Cittelly <i>et al</i> , 2002
	97	80.4	Sicinschi <i>et al</i> , 2008
Ecuador	38	92.1	Debets-Ossenkopp <i>et al</i> , 2003
Serbia y Montenegro	129	93.8	Sokic-Milutinovic, Wex, Todorovic, Milosavljevic & Malferttheiner, 2004
Sudáfrica	59	95.0	Kidda, Lastovicab, Athertonc & Louwa, 1999
India	78	96.2	Mukhopadhyay <i>et al</i> , 2000
	95	71.18	Dharne <i>et al</i> , 2007
Islandia	54	98.1	Konráðsson, Andersen, Oddsson, Guðjónsson & Thornjóðleifsson, 2003
Corea	60	98.3	Miehlke <i>et al</i> , 1996
Taiwán	101	99.0	Lai <i>et al</i> , 2002
	167	91.0	Wu <i>et al</i> , 2005
China	83	99.0	Pan <i>et al</i> , 1997
	82	93.9	Zhou, Zhang, Xu & He, 2004

A = población estudiada son niños.

#### **1.4.4.4.3 Estudios que analizan la relación del genotipo *cagA* de *Helicobacter pylori* con las patologías gástricas**

Una investigación encontró la asociación entre un antígeno de alto peso molecular de *H. pylori* con la virulencia y producción de citotoxina, el denominado cytotoxin-associated gene, CagA (Tummuru, Cover & Blaserl, 1993).

En Reino Unido, un estudio sobre la asociación del gen *cagA* con la actividad de la citotoxina vacuolizante y las enfermedades gastroduodenales, indicó que un 40% de las cepas que contienen *cagA* no producen una actividad de citotoxina. Además, no observaron una asociación significativa entre la presencia de *cagA* y la enfermedad de úlcera duodenal, por lo que concluyeron que la presencia del gen *cagA* en *H. pylori* no puede ser usado con un único factor para predecir el alto riesgo para el desarrollo de patologías severas en los pacientes (Owen *et al*, 1994).

En Estados Unidos de América, una investigación encontró que de los pacientes con *H. pylori* y con ulceración péptica, el 92% estuvieron infectados con cepas *cagA+*; mientras que, en los individuos que presentaron solamente gastritis, el 50% fue positivo para la cepa *cagA* y éstos presentaron en su mucosa gástrica grados significativamente altos de inflamación, en comparación con los pacientes negativos para *cagA*. Lo cual indicó que la infección con cepas de *H. pylori cagA+*, esta asociada con: altos grados de inflamación gástrica, incrementados niveles de IL-8 en la mucosa, y un mayor riesgo para la ulceración péptica (Peek *et al*, 1995).

En los Países Bajos, un estudio de seguimiento a individuos afectados con *H. pylori* determinó que, el 62% de los individuos positivos para *cagA* tuvieron gastritis atrófica, en comparación con el 32% negativos para *cagA*. Concluyendo la existencia de una asociación, entre la infección con cepas de *H. pylori cagA+* y el aumento del riesgo para el desarrollo de gastritis atrófica y metaplasia intestinal (Kuipers *et al*, 1995).

En Bélgica, un estudio que empleó la detección serológica para evaluar la infección con cepas *H. pylori cagA+*, encontró a este genotipo en pacientes con úlcera duodenal (81.3%), úlcera gástrica (68.0%) y úlcera no dispepsia (59.0%). Lo cual demostró la existencia de una asociación, entre la infección con *H. pylori cag A+* y la presencia de ulceración duodenal (Cover *et al*, 1995).

En Estados Unidos de América, un estudio de la relación entre infección con cepas de *H. pylori* positivas para *cagA* y el riesgo para desarrollar adenocarcinoma gástrico; encontró que, en los hombres que presentaron anticuerpos para el antígeno CagA, su riesgo para desarrollar cáncer gástrico fue de 1.9 (OR), y que en los diagnósticos el transcurso del avance del tumor estuvo significativamente asociado con la seropositividad para CagA. Lo cual llevó a la conclusión que, la infección con cepas de *H. pylori cagA* positivas, en comparación con las cepas *cagA* negativas, incrementa el riesgo para el desarrollo del cáncer gástrico, especialmente el de tipo intestinal que afecta a la parte distal del estómago (Blaser *et al*, 1995).

En Corea, un análisis de cepas de *H. pylori* concluyó que, la alta prevalencia del gen *cagA* en la población coreana con adenocarcinoma gástrico o úlceras duodenales, indica que, el gen *cagA* es común en las cepas de *H. pylori*; y por lo tanto, no es un marcador fiable para la discriminación de las cepas de *H. pylori*, con respecto a una enfermedad específica en los individuos coreanos (Miehlke *et al*, 1996).

En Hong Kong, una investigación cuyo objetivo fue determinar la prevalencia de cepas de *H. pylori cagA+* en pacientes con úlcera péptica, empleado la técnica de Elisa; encontró positividad para el anticuerpo anti-CagA, en un porcentaje significativamente alto (84%) en los individuos con úlcera péptica, que en aquellos sin úlcera y controles asintomáticos sanos. Llegando a la conclusión que, los anticuerpos anti-CagA pueden ser usados como marcador clínico para la ulceración péptica (Ching *et al*, 1996).

En Estados Unidos de América, un estudio que evaluó la presencia del gen *cagA* por hibridación, mostró su presencia en 96.7% de los pacientes con úlcera duodenal, versus 83.3% de los individuos con gastritis asintomática; lo

cual sugirió que la presencia de *cagA* en las cepas de *H. pylori* es independiente de si los individuos tienen úlcera duodenal o gastritis asintomáticas, en la población analizada (Go & Graham, 1996).

En Reino Unido, una investigación halló en los pacientes infectados con *H. pylori* que los anticuerpos para CagA eran más frecuentes en pacientes con úlcera duodenal (75%) o úlceras gástricas (100%), que en los pacientes control. Indicando que, la presencia de anticuerpos para CagA están asociados con atrofia gástrica y úlcera péptica; y siendo la atrofia un precursor del cáncer gástrico, se mantuvo la hipótesis que determinadas cepas de *H. pylori* son la causa más probable para el desarrollo del cáncer gástrico (Beales, Crabtree, Scunes, Covacci & Calam, 1996).

Un estudio que examinó la seroprevalencia del anticuerpo para el antígeno CagA, en individuos residentes en Australia y China; encontró una significativa asociación, entre la prevalencia del anticuerpo para CagA y la enfermedad de úlcera duodenal, en los individuos de Australia. Mientras que, en los de China, no hubo asociación entre la prevalencia de este anticuerpo y el cáncer gástrico; concluyendo que, el gen *cagA* no esta asociado con el desarrollo de enfermedades gastroduodenales más serias en los pacientes chinos; sin embargo, esto no impide que este gen sea un factor importante pero insuficiente en algunos procesos patológicos (Mitchell, Hazell, Li & Hu, 1996)

Un estudio que investigó la infección por cepas *cagA+* y *cagA-* en un mismo individuo; concluyó que, las diferencias en los factores patogénicos de la bacteria, pueden contribuir en las diferencias de los resultados clínicos (Fantry, Zheng, Darwin, Rosenstein & James, 1996).

En Estados Unidos de América, un estudio cuyo propósito fue determinar si las cepas de *H. pylori* genotipo *cagA* y *vacA*, afectan diferencialmente a: la proliferación de las células epiteliales, apoptosis, y los parámetros histológicos de inflamación y lesión; encontró que, la proliferación celular en la mucosa gástrica estuvo significativamente correlacionada con la severidad de la gastritis aguda, en las personas infectadas con cepas *cagA* y *vacA*. Además, este incremento de la proliferación celular no estuvo



acompañado por el aumento paralelo de la apoptosis. Lo cual puede explicar que, la intensificación del riesgo para el carcinoma gástrico esta asociado con la infección por cepas de *H. pylori cagA* y *vacA* (Peek *et al*, 1997).

En China, un estudio encontró que la prevalencia de cepas de *H. pylori cagA+* en la población de pacientes chinos con úlcera péptica y con gastritis crónica es universalmente alta, 98% y 100% respectivamente; lo que implica que, *cagA* no puede ser usado como un marcador para la presencia de úlcera péptica en los pacientes chinos; y además sugiere que, pueden existir variaciones alélicas en *cagA*, y que los diferentes genotipos de *H. pylori* resultantes pueden estar propagados en China y en Europa Occidental (Pan *et al*, 1997).

En Estados Unidos de América, una investigación evaluó si el riesgo de desarrollar cáncer esta afectado por la infección por cepas de *H. pylori* fenotipo CagA. Y encontró que, los individuos infectados con *H. pylori* que poseían los anticuerpos para CagA, tenían 5.8 veces más probabilidad de desarrollar cáncer gástrico, que los individuos no infectados. Siendo esto aplicable para los cánceres de tipo difuso (OR = 10.1) e intestinal (OR = 5.1). En contraste, los individuos infectados con *H. pylori* sin los anticuerpos para CagA, fueron escasamente o no significativamente, afectados para el incremento del riesgo para desarrollar cáncer gástrico, y en el caso de haber alguna asociación, ésta se limitó al carcinoma de tipo difuso. Además, el nivel de educación, el hábito de fumar, y el grupo sanguíneo ABO, no estuvieron asociados con la malignidad. Por lo cual, concluyeron que al comparar los individuos no infectados, con las personas infectadas con cepas de *H. pylori* positivas para CagA, éstas últimas tienen considerablemente incrementado el riesgo para el cáncer gástrico; y que, las cepas de *H. pylori* negativas para CagA están mucho menos relacionadas con la malignidad, y pueden solo ser asociadas con la patología tipo difusa (Parsonnet *et al*, 1997).

En Reino Unido, un análisis de la asociación clínica e histológica del genotipo *cagA*, en la gastritis relacionada con *H. pylori*; encontró que, la prevalencia de *cagA+* en los pacientes con úlcera duodenal (94%) fue significativamente mayor en comparación con aquellos individuos que no tenían

úlceras dispepsia (56%). Sin embargo, de los pacientes infectados con la cepa *cagA+*, casi en igual número tenían úlceras no dispepsia o ulceración péptica. La inflamación crónica, actividad polimórfica, degeneración de la superficie epitelial, atrofia, y metaplasia intestinal, fueron todas significativamente más severas en el grupo de pacientes que tenían *H. pylori cagA+* que en el grupo con *cagA-*. Asimismo, los pacientes infectados con cepas *cagA+* tuvieron una probabilidad cuatro veces mayor de tener metaplasia intestinal antral, que los pacientes *cagA-*. Concluyendo que, las cepas *cagA+* están asociadas con gastritis más severas; sin embargo, solamente este factor de virulencia no determina el patrón general de la enfermedad, sino que, este patrón está estrechamente vinculado a la patología clínica. Por lo tanto, es probable que la naturaleza de la enfermedad, producto de la infección crónica, esté determinada por el hospedero y los factores ambientales; mientras que, los factores bacterianos determinan la magnitud del riesgo para el desarrollo de esa enfermedad (Warburton *et al*, 1998).

En Italia, un análisis de detección serológica para la infección por *H. pylori cagA* positiva en poblaciones norteñas de este país, halló que, una alta prevalencia de anti – CagA estuvo asociada con úlcera duodenal (86.1%) y con úlcera gástrica (96.4%); mientras que, los pacientes con úlcera no dispepsia mostraron una seropositividad de 53.4% (OR = 5.66). Concluyendo de esta forma que, en la población estudiada la seropositividad para anti – CagA está fuertemente asociada con la enfermedad de úlcera péptica; por lo cual, CagA puede jugar un rol importante en la patogénesis de la úlcera (Orsini *et al*, 1998).

En Italia, un estudio estimó el rol de CagA en la gastritis atrófica y metaplasia intestinal, en la infección con *H. pylori*; y encontró que, los pacientes positivos para CagA tenían valoraciones más altas para atrofia ( $p = 0.006$ ), metaplasia intestinal ( $p = 0.01$ ), e infiltración celular por mononucleares ( $p < 0.001$ ) y polimorfonucleares ( $p = 0.002$ ). Llegando a la conclusión que, la infección con cepas de *H. pylori* positivas para CagA, están asociadas con un incremento de la intensidad y prevalencia de la atrofia antral y metaplasia intestinal. Por lo cual, se sugiere que el estatus de CagA podría ser usado

como un parámetro útil para definir un subgrupo de pacientes, con un riesgo mayor para el desarrollo de adenocarcinoma gástrico (Sozzi *et al*, 1998).

En Japón, una investigación señaló que, la mayoría de aislados de *H. pylori* son positivos para la citotoxina vacuolizante y CagA; por lo cual, estos factores de virulencia no pueden ser usados como marcadores, para discernir el riesgo del desarrollo de patologías gastroduodenales severas en esta población (Maeda *et al*, 1998).

En República Checa, un estudio que valoró y correlacionó la seropositividad para CagA, en un grupo de adultos sintomáticos, con sus resultados histopatológicos; encontró que, los anticuerpos para CagA estuvieron presentes en un 73%, entre los pacientes positivos para *H. pylori* y con úlcera péptica; en comparación con el 36% de los pacientes sin úlcera péptica. Concluyendo que, la presencia de anticuerpos para CagA en las personas positivas para *H. pylori*, puede ser útil para la identificación de los pacientes con alto riesgo para enfermedades más severas (Havlasová, Bures, Rejchrt, Voxová & Krejsek, 1998).

En Italia, un estudio evaluó la presencia simultánea tanto de cepas *cagA+* y *cagA-* de *H. pylori*, en los individuos infectados con la bacteria; y encontró que, la mayoría de pacientes con úlcera no dispepsia están infectados con ambas cepas. Por lo cual, concluyeron que el estado de *cagA* puede jugar un rol importante en el desarrollo de atrofia y metaplasia intestinal (Figura *et al*, 1998). Asimismo, un análisis en pacientes mayores a 62 años infectados con *H. pylori*; encontró que, la positividad para CagA fue significativamente más común en pacientes con úlcera gástrica (90%) que en úlcera duodenal (50%) o gastritis crónica (43.5%). Asimismo, la gastritis atrófica y metaplasia intestinal fue significativamente más común en pacientes CagA positivos, que en los negativos, 40.54% vs 11.76% y 40.54% vs 14.70%, respectivamente. Además, la regresión logística demostró que la gastritis atrófica (OR = 4.53) y la metaplasia intestinal (OR = 3.44) son factores asociados significativamente con la positividad para CagA. Concluyendo que, la infección con cepas de *H. pylori* positivas para CagA puede ser catalizadora para la inducción de cambios, que pueden evolucionar y convertirse en malignos (Pilotto *et al*, 1998).

En Japón, un análisis de la seropositividad para CagA, asociada con el desarrollo de cáncer gástrico en una población japonesa; encontró una seropositividad para CagA del 60% en de los pacientes con cáncer, y del 40% en los controles; siendo el riesgo para el cáncer gástrico de 1.93 (OR) en los seropositivos para CagA. Lo cual sugiere que, la seropositividad para CagA esta asociada con el incremento del riesgo para el cáncer gástrico en las poblaciones japonesas (Shimoyama *et al*, 1998).

En Estonia, una evaluación durante un periodo de 18 años del curso de la gastritis crónica, y su asociación con *H. pylori* seropositiva para CagA; señaló que, durante este lapso de tiempo 11% de los individuos desarrollaron atrofia en el antro, mientras que, el 35% la desarrollo en el cuerpo. El desarrollo de la atrofia en el cuerpo y la aparición de metaplasia intestinal en el antro, estuvo asociada con un incremento en la actividad de la gastritis. Asimismo, en los especímenes de las biopsias de antro y cuerpo, existió una significativa asociación entre: la positividad para CagA y la actividad de la gastritis, la presencia de atrofia, y el daño de las células epiteliales superficiales. Concluyendo que, las cepas de *H. pylori* positivas para CagA acentúan el desarrollo de gastritis atrófica, en comparación con las cepas negativas para CagA (Maaroos *et al*, 1999).

En Suecia, un estudio encontró que, los pacientes infectados con *H. pylori* y con úlcera duodenal, tuvieron en el duodeno una densidad elevada de bacterias, y de estas cepas una alta proporción fueron positivas para *cagA*. Concluyendo que, la infección con una alta densidad de cepas de *H. pylori cagA+* esta relacionada con el desarrollo de úlceras duodenales (Hamlet, Thoreson, Nilsson, Svennerholm & Olbe, 1999).

En Italia, un estudio reveló una asociación significativa entre el carcinoma gástrico y la infección con cepas de *H. pylori cagA+*. Lo cual sugiere que, la bacteria tiene un rol etiológico en el carcinoma gástrico, tanto del tipo difuso como del intestinal (Rugge *et al*, 1999).

En Grecia, un análisis sobre la relación del estatus *cagA* de *H. pylori* en la proliferación de las células gástricas y la apoptosis; concluyó que, las cepas

de *H. pylori cagA* positivas inducen la proliferación de las células gástricas, la cual no está acompañada por un incremento paralelo en la apoptosis; por lo que este comportamiento, puede explicar el incremento que se da en el riesgo para el carcinoma gástrico asociado con la infección por cepas positivas para *cagA* (Rokkas *et al*, 1999).

En Suecia, un estudio sobre los tipos de cepas de *H. pylori* y el riesgo de cáncer gástrico; encontró una asociación positiva, entre la infección con *H. pylori* y el riesgo para el cáncer gástrico (OR = 2.1). Además, entre las cepas de *H. pylori*, las positivas para CagA y VacA (OR = 2.0) y las positivas para CagA o VacA (OR = 1.8), presentaron diferentes niveles de asociación con el cáncer gástrico. Concluyendo que, la infección por cepas de *H. pylori* más virulentas y la presencia de anticuerpos contra la proteína CagA, pueden ser usados como marcadores para el incremento del riesgo de adenocarcinoma gástrico; y que en el futuro, los tipos de cepas de *H. pylori* podrían ser usados para la determinación del resultado patológico (Enroth, Kraaz, Engstrand, Nyrén & Rohan, 2000).

En Singapur, un análisis de aislados de *H. pylori* encontró que, no hay una significativa diferencia en la prevalencia del gen *cagA*, entre los pacientes con úlcera péptica y los sin úlcera (86.6% y 90.2%). Además, concluyó que los genes *cagA*, *iceA*, y *vacA* no son marcadores universales de virulencia para la población analizada, y que las interacciones hospedero – patógeno son importantes en la determinación del resultado clínico (Zhenga *et al*, 2000).

En Francia, un estudio sobre la relación de la infección con cepas de *H. pylori cagA+* y el incremento del estrés oxidativo y por nitratos en el estómago; encontró, altos niveles de proteínas oxidadas y nitradas en los pacientes con gastritis crónica y/o úlcera duodenal, en comparación con los que poseían una mucosa normal. Asimismo, los niveles de proteínas modificadas fueron significativamente más altos en las muestras de los pacientes infectados con *H. pylori*, especialmente con las cepas *cagA*, y en los que expresaban IL-8 y mRNAs de la sintetasa inducible por óxido nítrico; que en aquellos que fueron negativos para estos parámetros. Concluyendo, que la infección por cepas de *H. pylori cagA+* inducen en la mucosa gástrica el estrés oxidativo y por nitratos,

lo cual contribuye a la patogénesis de *H. pylori* asociada a las enfermedades gastroduodenales (Li *et al*, 2001).

Un que estudio investigó la histopatología gástrica en pacientes portugueses y colombianos infectados con *H. pylori*, y evaluó su relación con los factores de virulencia *vacA*, *cagA* y *iceA*; encontró una fuerte relación entre estos genotipos con: una alta densidad de *H. pylori*, altos grados de infiltración de linfocitos y neutrófilos, atrofia, tipo de metaplasia intestinal, y presencia de daño epitelial (Nogueira *et al*, 2001).

En Argentina, un análisis de los genotipos *vacA* y el estatus de *cagA* de *H. pylori* señaló que, del 84% de pacientes que fueron positivos para *H. pylori cagA*, no se presentó una diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia, entre los pacientes con úlcera o con úlcera no dispepsia (Catalano *et al*, 2001).

En Costa Rica, una investigación sobre la composición y expresión génica de la isla de patogenicidad (PAI) *cag*, en cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes con gastritis y cáncer gástrico indicó que, la mayoría de cepas en esta población son positivas para la PAI *cag* (74.4%). Además, no encontró una diferencia estadísticamente significativa para la asociación de *cagA* con las enfermedades gástricas más severas, como el cáncer gástrico, en la población estudiada (Occhialini *et al*, 2001).

En Francia, un estudio sobre el estatus de CagA y la virulencia de las cepas de *H. pylori*; indicó que, en los resultados histológicos la virulencia asociada con las cepas *cagA* positivas fue significativamente alta ( $p = 0.0035$ ) que la asociada con las cepas negativas para *cagA*, en el antro ( $p = 0.0063$ ), y en *angulus* ( $p = 0.046$ ), pero no en el *fundus* ( $p = 0.05$ ). Concluyendo que, las cepas *cagA* están asociadas con una mayor virulencia histológica; sin embargo, esta virulencia no está asociada con síntomas más severos, y además, no produce un incremento en la resistencia para la erradicación de *H. pylori* (Bommelaer *et al*, 2001).

En Inglaterra, un estudio sobre la prevalencia de los marcadores de la isla de patogenicidad y la presencia de *IS605*, en relación con la edad del paciente y la severidad de la enfermedad gástrica; encontró que, el 68% de los aislados de *H. pylori* contenían una PAI, en base a la detección de *cagA*. Además que, la frecuencia del genotipo *cagA* fue similar en los pacientes con úlcera péptica y con úlcera no dispepsia, 79% vs. 74%; y que los insertos genómicos de *IS605* estuvieron presentes con una frecuencia del 32%, y estuvieron ampliamente distribuidos con respecto a la edad del paciente y la severidad de la enfermedad. Asimismo, la presencia de cepas con genotipo *cagA+//IS-* fue común, pero no estuvo significativamente asociada con la enfermedad de úlcera péptica, en comparación con la mucosa normal. Concluyendo que, la presencia de *IS605*, ya sea en cepas *cagA+* o *cagA-*, no modifica la severidad asociada a la enfermedad en la población estudiada (Owen, Peters, Varea, Teare & Saverymuttu, 2001).

Un análisis sobre la relación entre la apoptosis de las células epiteliales gástricas y la colonización por *H. pylori*, puso de manifiesto que, los resultados obtenidos no apoyan la hipótesis que indica una relativa deficiencia de apoptosis en las células epiteliales gástricas asociada a la presencia de cepas *cagA* positivas. Concluyendo que, los factores del hospedero pueden ser más importantes que los productos bacterianos, en la determinación del diagnóstico a largo plazo de la colonización por *H. pylori* (Moss *et al*, 2001).

Un estudio sobre el rol de la infección por *H. pylori cagA* en la determinación del daño oxidativo del DNA, en la mucosa gástrica; encontró que, la infección con cepas positivas para *CagA* esta asociada con una elevada producción de especies reactivas de oxígeno, lo que corresponde a un severo daño oxidativo del DNA. Sugiriendo que, el daño mediado por los radicales libres de oxígeno, debido a cepas de *H. pylori* citotóxicas, podría estar comprometido en la evolución de la gastritis crónica a carcinoma gástrico (Papa *et al*, 2002).

En Estonia, un análisis de la asociación de los genotipos *vacA* y *cagA* de *H. pylori* con las enfermedades gástricas, halló una alta prevalencia del gen *cagA* en esta población. Sin embargo, no encontró claras diferencias en la

distribución de los genotipos *cagA* y *vacA*, en los pacientes con úlcera péptica severamente lacerada, úlcera péptica leve, o cáncer gástrico (Andreson *et al*, 2002).

En Turquía, un estudio que analizó la importancia clínica del estatus de CagA en los pacientes infectados con *H. pylori*, y evaluó su asociación con los cambios histológicos en la mucosa gástrica; encontró que, la actividad e inflamación crónica fue significativamente mayor ( $p = 0.001$ ) en los pacientes infectados con cepas *cagA+*, que en los infectados con cepas *cagA-*; la presencia de atrofia y agregados linfoides, no fue diferente entre los dos grupos de pacientes, sin embargo, la metaplasia intestinal mostró ser significativamente frecuente ( $p = 0.001$ ) en los pacientes infectados con las cepas de *H. pylori cagA+*. Concluyendo que, pese a que la virulencia de las cepas *cagA+* no esta asociada con síntomas más severos, estas cepas causan grandes cambios histológicos que pueden predecirse mediante la determinación del estatus de *cagA* (Saruç *et al*, 2002).

En Taiwán, una investigación sobre la relación de la prevalencia de los genotipos de la isla de patogenicidad (PAI), *IS605*, y *iceA1* en las cepas de *H. pylori* encontró que, todas las cepas fueron positivas para todos los genes analizados de la PAI (*cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagF*, *cagN*, *cagT*) y que, *iceA1* estuvo presente en 72% de los aislados. Concluyendo que, aunque toda población examinada fue positiva para los genes seleccionados de PAI, éstos no estuvieron correlacionados con los resultados histopatológicos; no obstante, otros factores bacterianos, como lo es la presencia de *iceA1*, podrían estar relacionados con la severidad de la inflamación gástrica y con el incremento del tamaño de la úlcera, en los pacientes infectados con *H. pylori* (Sheu *et al*, 2002).

Un estudio en Polonia, que evaluó el rol de la infección por *H. pylori cagA* positiva en el cáncer gástrico; encontró que, los pacientes con cáncer gástrico y los controles tenían igual prevalencia de los anticuerpos CagA para *H. pylori*. Asimismo, que las personas con *H. pylori* CagA positivo y negativo tuvieron igual riesgo para desarrollar cáncer gástrico; sin embargo el análisis del subgrupo infectado por cepas de *H. pylori cagA*, mostró que, el riesgo para



el desarrollo de cáncer gástrico depende de la edad, siendo dos veces más alto para los individuos jóvenes (15 a 40 años) y cuatro veces más alto para aquellos menores a 30 años; existiendo de esta forma una relación positiva, entre la infección con cepas de *H. pylori cagA* y la edad ( $p = 0.043$ ). Además, la infección por cepas *cagA* positivas fue independiente del sexo, el historial familiar de cáncer, duración de los síntomas, grupo sanguíneo ABO, y sitio del tumor. Concluyendo que, la infección por cepas positivas para CagA incrementa el riesgo para desarrollar cáncer gástrico en personas jóvenes (Ławniczak & Starzyńska, 2002).

En Colombia, un estudio sobre los genotipos de *H. pylori* encontró que, las cepas *cagA+* fueron menos frecuentes en los pacientes con gastritis no atrófica (51.4%), en comparación con las patologías más severas como: gastritis atrófica (60.9%), metaplasia intestinal (63.2%), adenocarcinoma gástrico (80.0%), y úlcera péptica (66.7%); lo cual sugiere que, *cagA* puede ser usado como marcador de una mayor virulencia y riesgo, para el desarrollo de patologías gástricas severas, aunque no sería útil para diferenciar cepas ulcerogénicas y carcinogénicas (Cittelly *et al*, 2002).

Un estudio en pacientes de Taiwán, indicó que, dada la alta prevalencia de *cagA* y *babA2* en esta población, estos genes no pueden ser usados como marcadores para el riesgo del desarrollo de patologías gástricas severas. Asimismo, no encontró una relevancia clínica entre la presencia de *cagA* y las patologías analizadas (Lai *et al*, 2002).

Un análisis sobre la relación entre la seropositividad para CagA y el cáncer gástrico, señaló que, dicha seropositividad incrementó significativamente el riesgo para el cáncer gástrico en los pacientes y en los controles analizados en 2.28 y 2.87 veces, respectivamente. Concluyendo que, la infección con cepas de *H. pylori* positivas para CagA incrementa el riesgo para el cáncer gástrico, sobre el riesgo asociado a la infección sólo con *H. pylori*; por lo cual, la tipificación del estatus para *cagA* en la infección por *H. pylori* puede convertirse en una ventaja adicional para la identificación de poblaciones con elevado riesgo para el cáncer gástrico (Huang *et al*, 2003).

Un estudio de la seropositividad para CagA, en pacientes de dos regiones de Turquía, encontró que, la positividad para este antígeno en los pacientes con úlcera péptica y úlcera no dispepsia, fue del 100% y 95.6% respectivamente. Lo cual sugiere que, dada la alta prevalencia de positividad para CagA en esta población, otros factores a parte de CagA estarían involucrados en el desarrollo de la ulceración u otros tipos de patologías severas en los individuos infectados por *H. pylori* (Serin *et al*, 2003).

En Brasil, un análisis de la susceptibilidad antimicrobiana y los factores de virulencia de aislados de *H. pylori*, encontró una asociación entre la enfermedad de la úlcera péptica y la presencia de *cagA*; sugiriendo que, los individuos brasileños infectados con cepas de *H. pylori* positivas para *cagA* tienen mayor riesgo de desarrollar ulceración péptica (Godoy *et al*, 2003).

Una investigación de la prevalencia de la infección por *H. pylori*, y su relación con las enfermedades gástricas, en pacientes de Islandia; encontró que, las cepas de *H. pylori* que están asociadas con la úlcera duodenal en estos individuos, son predominantemente *cagA* positivas (98.1%) (Konráðsson *et al*, 2003).

Un análisis sobre la presencia de anticuerpos CagA, como un marcador de virulencia en pacientes (niños y adultos) chilenos con infección por *H. pylori*; indicó que, entre estos individuos, no fue significativa la asociación entre la edad y la prevalencia de CagA; y que cerca del 70% de los pacientes con *H. pylori* y úlcera péptica, presentaron cepas CagA positivas. Por el contrario, solo el 49% de los pacientes con gastritis crónica tuvieron cepas positivas para CagA. Concluyendo que en Chile, entre los pacientes infectados con *H. pylori*, la prevalencia de CagA no fue significativamente diferente en los adultos y niños infectados con *H. pylori*; lo cual sugiere que, las variaciones en los resultados clínicos pueden estar relacionadas con la respuesta inmune del hospedero o factores ambientales (Harris *et al*, 2003).

En Italia, un estudio determinó que, la infección con *H. pylori cagA* esta asociada a altos niveles de inflamación, gastritis activa, y esta significativamente correlacionada con una alta prevalencia de lesiones atróficas

metaplásicas ( $p = 0.04$ ). Lo cual llevó a la conclusión que, los pacientes de la población analizada que fueron *cagA* positivos se caracterizaron primero por: altos niveles de gastritis, y lesiones con actividad, atrofia y metaplasia; y segundo por: un gran daño oxidativo del DNA, en los individuos jóvenes y con presencia de atrofia multifocal; por lo que estos cambios pueden representar el escenario para el desarrollo del cáncer (Farinati *et al*, 2003).

Un estudio sobre la relación entre la composición del la isla de patogenicidad y las enfermedades gastroduodenales, asociadas a la infección por *H. pylori*, en pacientes de Suecia; encontró que, el 76% de las cepas contenían todos los genes de la PAI *cag*, mientras que, el 9% no poseían ninguno de estos genes; y que de todos los aislados, el 15% presentaron delecciones parciales en la isla. Asimismo, indicó que las cepas con una PAI *cag* intacta, se encontraron con mayor frecuencia en pacientes con enfermedades gastroduodenales severas (OR = 5.13), lo cual sugirió que, la presencia de una PAI *cag* intacta se correlaciona con el desarrollo de patologías más severas, y por lo tanto, las delecciones parciales para PAI *cag* parecen ser suficientes para que la bacteria sea menos patógena (Nilsson *et al*, 2003).

En Italia, un estudio indicó que, aunque las cepas de *H. pylori* positivas para *cagA* está asociadas significativamente ( $p < 0.001$ ) con la metaplasia intestinal, las infecciones causadas por cepas que coexpresan *cagA*, *s1m1* *vacA*, y *babA2*, incrementan sinérgicamente el riesgo para la metaplasia intestinal (Zambon, Navaglia, Basso, Rugge & Plebani, 2003).

Un análisis del genotipo *cagA* y sus variantes, en cepas de *H. pylori* de pacientes chinos, y su relación con enfermedades gastroduodenales; detectó al gen *cagA* en un 100% de los pacientes con úlcera péptica, en un 100% en pacientes con cáncer gástrico, en un 94.1% en pacientes con gastritis crónica, y en 94.4% en individuos sanos. Por lo cual concluyeron que, el gen *cagA* no puede ser usado como único marcador para la presencia de enfermedades gastroduodenales, relacionadas a una cepa específica de *H. pylori*, en la población china (Zhou *et al*, 2004).

Un estudio efectuado en individuos etíopes, detectó un alto grado de cepas *H. pylori* positivas para *vacA* y *cagA*, en pacientes con gastritis crónica activa (71%), en comparación con los pacientes que presentaron otros resultados histopatológicos (Asrat *et al*, 2004).

En Chile, una investigación sobre la relación del genotipo de *H. pylori* con la forma e intensidad de la gastritis, en población adulta portadora de patología gástrica benigna; halló que, la presencia del gen *cagA* se correlacionó en forma estadísticamente significativa ( $p = 0.001$ ) con la intensidad del infiltrado por polimorfonucleares, y con la severidad del daño epitelial. Concluyendo de esta forma que, *cagA* está asociado con la severidad del daño en la mucosa gástrica (Araya *et al*, 2004).

Un análisis del genotipo de *H. pylori* y su relación con pacientes turcos, encontró que, *cagA* se asocia significativamente con la enfermedad de úlcera péptica ( $p < 0.00001$ ) y el cáncer gástrico ( $p < 0.001$ ) (Saribasak *et al*, 2004).

En Suecia, un estudio investigó si la asociación entre *H. pylori* y el cáncer gástrico está limitado a las cepas CagA positivas; y encontró que, la positividad para *H. pylori* sí estuvo asociada con un incremento en el riesgo para el adenocarcinoma gástrico, y que entre estos individuos, la presencia del anticuerpo para CagA incrementó el riesgo en 3.6 veces. Sin embargo, los individuos positivos para *H. pylori* y negativos para CagA también estuvieron asociados con 4 veces más riesgo para el cáncer gástrico, en comparación con los individuos no infectados. Concluyendo que, aunque los pacientes con anticuerpos para CagA tienen un gran riesgo para el desarrollo del cáncer, aquellos con infecciones con cepas CagA negativas, corren un riesgo significativamente mayor que las personas no infectadas (Held *et al*, 2004).

Un estudio sobre la presencia de anticuerpos anti – CagA, en pacientes de Serbia y Montenegro infectados con *H. pylori*, no encontró una diferencia significativa entre los pacientes con úlcera duodenal y úlcera no dispepsia, que portaban anticuerpos anti – CagA. Concluyendo que, en esta población, la alta prevalencia para CagA no se relaciona con la enfermedad de úlcera péptica (Sokic-Milutinovic *et al*, 2004).

En Alemania, un análisis celular sobre la funcionalidad de la isla de patogenicidad *cag*, en aislados de *H. pylori* de pacientes con gastritis, úlcera péptica, y cáncer gástrico; indicó la existencia de una significativa asociación, entre la presencia de la PAI *cag* con los resultados histopatológicos, enfatizando así la importancia de la PAI *cag* para la patogenicidad de *H. pylori*. Sin embargo, no se encontró una significativa asociación entre las respuestas específicas inducidas por *H. pylori* con un grupo particular de pacientes. Lo que puede indicar que, la determinación del desarrollo de la enfermedad es altamente complejo, e involucra múltiples factores del hospedero y/o bacterianos (Backert *et al*, 2004).

Un estudio sobre la asociación entre la isla de patogenicidad (PAI) *cag* en *H. pylori* y la severidad de la histopatología en pacientes de India; reveló que, los genes que componen a la isla *cag* se encuentran en gran proporción en las cepas que afectan a los individuos con úlcera gástrica (97.8%) y cáncer gástrico (85.7%), por lo que, las cepas con la PAI *cag* completa fueron capaces de causar daños histológicos severos, en relación con las cepas que tenían deleciones parciales. Concluyendo que, la PAI *cag* es un fuerte marcador de virulencia en la patogénesis de la enfermedad, lo cual se confirma en el gran número de individuos infectados con cepas que poseen la PAI *cag* completa y que presentaron patologías gástricas irreversibles; y además, que las deleciones parciales de la PAI *cag* parecen ser suficientes para que la bacteria tenga menos patogenicidad (Ali *et al*, 2005).

En Venezuela, un estudio sobre la importancia de la presencia de los anticuerpos anti – CagA para *H. pylori*, en pacientes con enfermedades gástricas; encontró que, la tasa de positividad de anticuerpos anti-CagA en pacientes con úlcera gástrica, cáncer gástrico, y gastritis crónica fue del 87.8%, 77.7% y 40.8%, respectivamente. Concluyendo que, los niveles de anticuerpos anti-CagA fueron similares para pacientes con enfermedad gastroduodenal severa, incluyendo, úlcera gástrica y adenocarcinoma (Perrone *et al*, 2005).

Un estudio sobre la apoptosis en la gastritis por *H. pylori* y su relación con el estatus *cagA*; concluyó que, la infección con cepas *cagA* positivas esta asociada significativamente con la sobreexpresión de proteínas pro-apoptóticas

en la mucosa gástrica, principalmente en la curvatura menor antral, y que pueden estar relacionadas en la transformación maligna de las células epiteliales (Cabral *et al*, 2006).

En Italia, un estudio a nivel celular indicó que, la expresión de CagA trastorna la diferenciación epitelial, por lo que, la alteración en las interacciones célula – célula y entre la matriz celular, pueden servir como un evento temprano para la carcinogénesis inducida por *H. pylori* (Bagnoli *et al*, 2005).

Un estudio del estatus de *cagA* en *H. pylori* y su asociación con diferentes tasas de incidencia de cáncer gástrico, en dos regiones de Costa Rica; encontró al anticuerpo para CagA más frecuentemente en el grupo con alta tasa de incidencia (79%), que en el grupo con baja tasa de incidencia de cáncer gástrico (54%). Además, los pacientes con una edad sobre los 60 años, presentaron más frecuentemente el anticuerpo para CagA, en el grupo con alta incidencia (81%) que en el grupo con baja incidencia (49%). Concluyendo que, en la población estudiada, la infección con la cepa de *H. pylori cagA* esta asociada con la evolución de daños gástricos severos, como atrofia y desarrollo de cáncer (Con *et al*, 2006).

Una investigación de la prevalencia de los genotipos *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, *babA2* de *H. pylori* y su correlación con el diagnóstico histológico, en pacientes turcos con dispepsia; encontró que, el gen *cagA* estuvo asociado significativamente con la presencia de úlcera duodenal ( $p = 0.004$ ) y cáncer gástrico ( $p = 0.021$ ) (Erzin *et al*, 2006).

Un estudio que caracterizó aislados de *H. pylori*, de individuos del noreste de México, no encontró una asociación entre el genotipo *cagA* y *vacA* con los resultados clínicos más severos (Garza *et al*, 2006).

En Japón, una investigación sobre el efecto de la combinación de la infección por *H. pylori cagA+* con el estatus del pepsinógeno, sobre el desarrollo del cáncer gástrico encontró que, el riesgo para el cáncer gástrico asociado con la infección por *H. pylori* fue 5.1 (OR), y si se supone que todos los individuos infectados, son por cepas *cagA+*, este riesgo se duplica.

También halló que, la gastritis atrófica estuvo asociada con un elevado riesgo para el cáncer gástrico, y que este riesgo se incrementó aún más, cuando los niveles de pepsinógeno eran bajos (Sasazuki *et al*, 2006).

Un análisis sobre la positividad a CagA y su asociación con las enfermedades gastroduodenales, en niños turcos; señaló que, si bien la infección por *H. pylori* esta asociada con la enfermedad de úlcera duodenal, la positividad para CagA no parece contribuir en el desarrollo de las úlceras en los niños de la población estudiada (Sökücü *et al*, 2006).

Un estudio sobre la positividad para *cagA* y su relación con la gastritis crónica, en niños brasileños; encontró que, la presencia del genotipo *cagA* fue del 69% en niños con gastritis crónica, y que de estos el 80% mostraron una actividad inflamatoria por neutrófilos; demostrando así la existencia de una fuerte relación entre las cepas *cagA+* y el proceso inflamatorio, lo cual conlleva al desarrollo de la gastritis crónica (Gatti *et al*, 2006).

En Venezuela, un estudio epidemiológico encontró una fuerte asociación, entre la infección con *H. pylori* positiva para *cagA* y la severidad de las lesiones precancerosas; mientras que, las cepas de *H. pylori* negativas para *cagA* estuvieron relacionadas solamente con gastritis crónica (Plummer *et al*, 2007).

Un trabajo realizado en Brasil, sobre la proliferación de las células epiteliales gástricas, y su relación con la gastritis producto de la infección con cepas *H. pylori cagA*; concluyó que, la infección con cepas *cagA* positivas promueve la proliferación epitelial, relacionada con la reacción inflamatoria del hospedero; principalmente en la curvatura menor del estómago, área que ha sido reconocida como el sitio donde la mayoría de carcinomas se presentan (Cabral *et al*, 2007).

Un estudio realizado en una población del occidente de India que investigó la relación entre diferentes genotipos (*cagA*, *vacA* y *iceA*) de *H. pylori* con la presencia de enfermedades gastroduodenales; encontró que, los resultados clínicos de la población infectada con *H. pylori*, no presentaron

ninguna correlación con el genotipo de la bacteria, ni con el género de los pacientes. Sin embargo, la incidencia del genotipo estuvo relacionada con la edad de los pacientes, donde el grupo de edad entre los 46 a 60 años, fue el más susceptible para la infección por *H. pylori* (Dharne *et al*, 2007).

En España, una evaluación en una población de españoles de raza blanca con cáncer gástrico, sobre la influencia de la infección por *H. pylori* y los factores genéticos del hospedero, para la susceptibilidad del desarrollo del cáncer gástrico; indicó que, la infección con cepas *cagA* positivas (OR = 2.54), el hábito de fumar (OR = 1.91), y un historial familiar positivo para el cáncer gástrico (OR = 3.67), son factores de riesgo para el cáncer de estómago (García-González *et al*, 2007).

Un estudio sobre la seroprevalencia de *H. pylori* y CagA, en una población de niños y adultos de Irán; encontró que, tanto en los niños y adultos infectados con la bacteria, la prevalencia del anticuerpo anti – CagA fue más alta en el género masculino que en el femenino, 78.4% vs. 66.3% ( $p = 0.07$ ) y 75.6% vs 54.71% ( $p < 0.04$ ), respectivamente; y hallaron una diferencia significativa entre la presencia del anticuerpo anti – CagA y la edad de los subgrupos. Concluyendo, que los anticuerpos anti – CagA fueron comunes en los niños y adultos, que la presencia de los anticuerpos para *H. pylori* estuvo influenciada por la edad y sexo de los individuos, y que la seroprevalencia para los anticuerpos anti – CagA estuvo incrementada con la edad, hasta los 30 años y luego decreció (Jafarzadeh, Rezayati & Nemat, 2007).

En Argentina, una investigación sobre la diversidad genotípica de *H. pylori* en relación a su isla de patogenicidad *cag*, en el nicho gástrico de un único hospedero; halló que, cerca de un tercio de los pacientes analizados tenían una PAI *cag* intacta en todos los nichos, el otro tercio tenía ausencia de la PAI *cag* en todos los nichos, y el tercio restante tenían una PAI *cag* con disrupciones en todos o en por lo menos uno de los nichos. Asimismo, en un cuarto de los pacientes, observaron una co – existencia de variantes de la misma cepa con diferentes genotipos para PAI *cag*. Estas variaciones genotípicas para PAI *cag* incluyeron la co – existencia de: diversas deleciones de la PAI *cag* en diferentes nichos, variantes con islas intactas y con deleciones



parciales, variantes con ausencia de la isla y con deleciones parciales de las PAIs *cag*, y variantes con una PAI *cag* intacta y con ausencia de la misma. Concluyendo que, la co – existencia de diversos genotipos para los factores de virulencia, en único hospedero, debe ser un parámetro a tomar en consideración cuando se bosqueja una correlación entre las cepas de *H. pylori* con la presentación clínica (Matteo *et al*, 2007).

Un estudio de genotipificación de *H. pylori* en residentes de áreas colombianas, con riesgos contrastantes para el cáncer gástrico; encontró que, las cepas más virulentas fueron las *cagA s1m1* y las *vacA m1*, las cuales fueron más prevalentes en las áreas con elevado riesgo que en las de bajo riesgo, por lo que pueden contribuir en la diferencia para el riesgo de padecer cáncer gástrico entre las regiones analizadas (Sicinschi *et al*, 2008).

#### **1.4.4.5 Pruebas invasivas para detectar la infección por *H. pylori***

*H. pylori* puede ser detectado fácilmente en la endoscopia por la histología, el cultivo o prueba de ureasa, pero todos los métodos basados en la biopsia son susceptibles de error de muestreo, ya que la infección es irregular. Hasta un 14% de los pacientes con *H. pylori* no tienen infección antral, pero tienen a *H. pylori* en otras zonas del estómago, especialmente si hay atrofia gástrica, metaplasia intestinal o reflujo biliar. Por otra parte, después una terapia parcialmente efectiva de erradicación, los bajos niveles de infección recurrente, pueden ser ignorados fácilmente debido a que la biopsia conduce a una sobreestimación de la eficacia de la terapia de erradicación. Por estas razones las normas del consenso recomiendan tomar múltiples biopsias del antro y cuerpo, tanto para la histología como para otros métodos (ya sea cultivo o pruebas de ureasa). En el cuadro 1.4 se presentan directrices para la toma de muestras de biopsias gástricas, antes y después del tratamiento para *H. pylori* (Goddard & Logan, 2003).

Aunque *H. pylori* puede ser reconocido en secciones teñidas solamente con Hemotoxilina – Eosina, tinciones complementarias especiales (por ejemplo, Giemsa) son siempre necesarias para detectar los bajos niveles de infección, y mostrar la morfología característica de *H. pylori*. La histología también

proporciona un registro histórico: secciones (o secciones adicionales) pueden ser examinadas y reexaminadas, y se puede evaluar la atrofia o metaplasia intestinal. Las biopsias adicionales de otras partes del estómago pueden ser conservadas en formol y procesadas solamente si la histología antral no es concluyente. El aislamiento microbiológico es “gold estándar” teórico para la identificación de cualquier infección bacteriana, sin embargo, el cultivo de *H. pylori* puede ser poco fiable, con riesgos de contaminación, de manera que es el método menos sensible para la detección y el menos disponible. También es necesario para los ensayos clínicos el cultivo y las pruebas de sensibilidad a antibióticos, debido a la prevalencia de cepas resistentes a múltiples fármacos (Goddard & Logan, 2003).

**Cuadro 1.4** Protocolo recomendado para la toma de biopsias para evaluar el estatus de *H. pylori*

	<i>Histología</i>	<i>Cultivo</i>	<i>Test de ureasa</i>	<i>PCR</i>
<i>Pre - tratamiento</i>				
Antro	++	++	++	
Cuerpo	xx			
<i>Post- tratamiento</i>				
Antro	++	++		+
Cuerpo	++	++		+

+ = una muestra de biopsia, ++ = dos muestras de biopsia, xx = debería tomarse si se evalúa metaplasia intestinal y/o atrofia.

Fuente: Goddard & Logan, 2003.

#### 1.4.4.6 Identificación de *H. pylori* por PCR

La PCR (Polymerase Chain Reaction), o reacción en cadena de la polimerasa, es un método *in vitro* rápido y versátil, diseñado para permitir la amplificación selectiva de una determinada secuencia de DNA, dentro de todas las secuencias presentes en una muestra de DNA. Para permitir dicha amplificación selectiva, se debe conocer *a priori* información sobre la secuencia objeto de análisis. Esta información es usada para el diseño de primers

oligonucleótidos, que son específicos para la secuencia objetivo y que suelen ser de unos 15 a 25 nucleótidos de longitud (Strachan & Read, 1999). El proceso consta de 3 fases que se caracterizan por sus condiciones de tiempo y temperatura, y que se repiten en ciclos que generalmente son de 30 veces. En la fase de denaturación (de 30 a 60 segundos y de 94 a 95°C) las cadenas de DNA se separan, en la fase de alineamiento (de 30 a 60 segundos y de 50 a 55°C) los primers se unen en el sitio objetivo en la plantilla de DNA denaturado, y en la fase de extensión (60 segundos y 72°C) la DNA polimerasa con los precursores del DNA (los cuatro deoxinucleótidos trifosfatos: dATP, dCTP, dGTP y dTTP) inicia la síntesis de nuevas cadenas de DNA que son complementarias a las cadenas de DNA del segmento de DNA objetivo, y que se solapan unas a otras (Surzycki, 1999).

El DNA bacteriano de *H. pylori* también puede usarse como un marcador de la infección, bajo las condiciones ideales la sensibilidad es próxima a la del cultivo. Las ventajas potenciales de la PCR incluyen, una alta especificidad, resultados rápidos, y la capacidad de identificar a la bacteria sin la exigencia de condiciones especiales de transporte. Empero el uso rutinario de la PCR, para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* ha resultado ser dificultoso, a pesar que esta prueba tiene una alta sensibilidad, las consideraciones prácticas y su costo han limitado su utilización. Sin embargo, el uso de la PCR en la infección por *H. pylori* es muy prometedor, y puede permitir la detección rápida de la resistencia a los antimicrobianos mediante la detección de mutaciones asociadas a los diversos antibióticos, constituyéndose en la actualidad una herramienta de investigación para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* (Graham & Qureshi, 2001).

Amplificaciones de PCR de los genes de ureasa de *H. pylori*, se han usado para establecer la presencia de bacterias viables o no viables (Moblely, 2001); asimismo, se han diseñado primers específicos para amplificar regiones de la secuencia *16S rRNA*, secuencia que esta altamente conservada en el DNA de las bacterias, lo que permite amplificar regiones del DNA de la bacteria y no amplificar el DNA humano (McCabe, Khan, Zhang, Mason & McCabe, 1995). También se usan las amplificaciones del gen *16S rRNA* de *H. pylori*

para determinar si una cepa es susceptible o resistente a los antibióticos de claritromicina antes del tratamiento, y así disminuir el fracaso terapéutico debido a la resistencia (Alm & Noonan, 2001).

### **1.5 Sistema de hipótesis**

Hipótesis nula: Las cepas de *Helicobacter pylori* genotipo *cagA* positivo no están relacionadas con patologías gástricas más severas.

Hipótesis alternativa: Las cepas de *Helicobacter pylori* genotipo *cagA* positivo están relacionadas con patologías gástricas más severas.

Nivel de confianza = 95%.

## **CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 Participantes**

#### **2.1.1 Instituciones**

Centro de Biomedicina, Universidad Central del Ecuador, Quito– Ecuador.

Escuela de Bioanálisis, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito– Ecuador.

Hospital “Eugenio Espejo”, Quito – Ecuador.

Hospital “Pedro Vicente Maldonado”, Pichincha – Ecuador.

Hospital “Vozandes”, Quito – Ecuador.

#### **2.1.2 Personal**

Dr. Oswaldo Rodríguez Mora, MD, PhD.

Dra. Bertha Estrella, Bioestadística.

Dra. Sonia Ontaneda, Msc, Microbióloga.

Dr. Fabián Tulcanazo, MD, Gastroenterólogo.

Dra. Ivonne Orellana, MD, Gastroenterólogo.

## **2.2 Zona de Estudio**

### **2.2.1 Trabajo de campo**

El estudio se efectuó en: el Hospital “Eugenio Espejo”, el Hospital “Vozandes”, de la ciudad de Quito; y en el Hospital “Pedro Vicente Maldonado”, de la ciudad Pedro Vicente Maldonado; provincia de Pichincha, Ecuador. Durante el período de abril de 2007 hasta octubre de 2007.

### **2.2.2 Trabajo de laboratorio**

El almacenamiento de las biopsias y el asilamiento de su DNA, se realizó en el Laboratorio de Biología Celular y Microbiología Molecular, Centro de Biomedicina, Universidad Central del Ecuador, Sodiro N 14-121 e Iquique, ciudad de Quito, provincia de Pichincha, Ecuador.

La cuantificación y los procesos de amplificación del material genético de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Escuela de Bioanálisis, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Av. 12 de Octubre y Roca, ciudad de Quito, provincia de Pichincha, Ecuador.

El diagnóstico, resultados e informes histológicos de las muestras fueron realizados en los Centros de Patología del Hospital “Eugenio Espejo” y Hospital “Vozandes”, y por el Dr. Guillermo López Alarcón para los pacientes del Hospital “Pedro Vicente Maldonado”. En la ciudad de Quito, provincia de Pichincha, Ecuador.

## **2.3 Período de tiempo de investigación**

Fecha de inicio: marzo del 2007.

Fecha de término: diciembre del 2007.

## 2.4 Diseño Bioestadístico

### 2.4.1 Cálculo del tamaño de la muestra

Tomando como punto de partida el estudio previo que reporta el 92.1% de prevalencia para el genotipo *cagA*, en los pacientes ecuatorianos infectados por *H. pylori* (Debets-Ossenkopp *et al*, 2003), el valor de la proporción esperada es igual a la diferencia entre la unidad y el porcentaje de individuos con *H. pylori cagA* positivo observado ( $P = 1 - 0.92 = 0.1$ ). Se utilizó un ancho total del intervalo,  $W$ , de 0.1 ( $\pm 0.5$ ) y un grado de significancia del 95%. Aplicando la fórmula indicada en el Cuadro 2.1 se obtuvo,  $n = 138.3$ . Es decir, 139 individuos con *H. pylori cagA* positivo, que representan al 92.1% (Debets-Ossenkopp *et al*, 2003); consecuentemente, se deben tener 151 individuos *H. pylori* positivos. Por lo tanto, si la tasa reportada para infección por *H. pylori* en los ecuatorianos es del 93.2% (Sempértegui *et al*, 2007), el número total de individuos que se obtuvo para participar en el estudio fue: 162 pacientes. No obstante, este estudio contó con 184 individuos participantes.

**Cuadro 2.1** Fórmula para determinar el tamaño de la muestra

---

$$n = \frac{4Z_{\alpha}^2 P(1-P)}{W^2}$$

$Z_{\alpha}$  = constante estadística  
 $P$  = proporción esperada  
 $W$  = ancho del intervalo  
 $n$  = tamaño de la muestra

---

$Z_{\alpha} = 1.96$  (grado de significancia,  $\alpha = 0.05$ )

Fuente: Browner, Blick & Newman, 1988.

## 2.5 Procedimientos

### 2.5.1 Selección de los individuos participantes y criterios de inclusión para el estudio

La investigación se inició con la Aprobación del Comité de Bioética (Anexo A) de la Universidad Central del Ecuador. Los candidatos a enrolarse

en el estudio fueron todos los individuos que asistieron al examen de endoscopia gastroduodenal, en los tres hospitales de la provincia de Pichincha, bajo los siguientes criterios: el individuo presenta un diagnóstico de gastritis y tiene disposición voluntaria para formar parte del estudio. Cumplidos estos requerimientos, a los individuos participantes se les informó sobre los aspectos claves del estudio y para constancia incluyeron su firma en la Hoja de Consentimiento Informado (Anexo B). Finalmente, se recopiló sus datos en el Formulario para Pacientes (Anexo C).

### **2.5.2 Endoscopia gastroduodenal**

El examen de endoscopia gastroduodenal, fue realizado por los médicos gastroenterólogos: Dr. Fabián Tulcanazo, para los pacientes del Hospital “Eugenio Espejo” y del Hospital “Pedro Vicente Maldonado”; y por la Dra. Ivonne Orellana, para los pacientes del Hospital “Vozandes”. Se obtuvo por cada paciente dos pares de muestras de tejido gástrico para el diagnóstico molecular, y de dos a tres pares para el examen histopatológico de acuerdo al requerimiento del médico tratante.

### **2.5.3 Codificación de los individuos participantes**

Los códigos se asignaron en el Formulario para Pacientes, en forma ordenada ascendentemente, de acuerdo al avance de la investigación. El código consistió en una numeración arábica de tres dígitos, desde 001 hasta 226.

### **2.5.4 Codificación y almacenamiento de las biopsias gástricas**

La codificación de las muestras destinadas para el diagnóstico molecular, se realizó con el código del paciente más una letra para la identificación de la zona del estómago de donde se obtuvo la biopsia, de tal forma que se asignó A = antro, B = cuerpo. Para el examen histopatológico, el código de las muestras consistió en la historia clínica del paciente más la identificación de la zona anatómica de donde se obtuvo la biopsia.

El almacenamiento fue diferenciado entre las muestras. Las designadas para histopatología, se recolectó en viales con solución al 10% de formol. Mientras que para el diagnóstico molecular, se colocó cada par de muestras en viales con solución de PBS (Anexo D).

### **2.5.5 Transporte de las biopsias gástricas**

Los viales conteniendo las biopsias gástricas, se transportaron en un contenedor aislante del calor, con paquetes de gel congelante; esto con el propósito de garantizar la cadena de frío, 4°C, desde el lugar de toma de las muestras hasta el laboratorio. Las muestras se receptaron y almacenaron en el laboratorio, a -80°C, para su posterior procesamiento.

### **2.5.6 Resultados histopatológicos**

Los resultados histopatológicos fueron proporcionados por: el Centro de Patología del Hospital “Eugenio Espejo”, el Centro de Patología del Hospital “Vozandes”, y por el Dr. Guillermo López Alarcón. A los cuales, se les asignó el código correspondiente en concordancia con el del Formulario para Pacientes.

### **2.5.7 Extracción del material genético**

#### **2.5.7.1 DNA de la cepa control**

Se utilizó como control positivo la cepa *H. pylori* ATCC 43504, la cual fue proporcionada por la Dra. Apolinaria García (Universidad de Concepción, Concepción, Chile). El DNA bacteriano, fue extraído con un kit comercial (DNAzol<sup>®</sup> Reagent, Life Technologies) siguiendo las instrucciones de la manufactura y se lo resuspendió por adicción de 200 µl de buffer TE (Anexo E).

#### **2.5.7.2 DNA del tejido gástrico**

Para la extracción del DNA de alto peso molecular a partir del tejido gástrico, se acogió el protocolo descrito por Sisler (2008). Por cada biopsia gástrica se usó un volumen final de 300 µl de una solución compuesta de: buffer lisis TES (Cuadro 2.2) y 100 µg/ml de Proteinasa K (Invitrogen). Al tejido



gástrico, se lo dispuso en un portaobjetos con 30 µl de la solución, y se troceó con un bisturí. Se homogenizó completamente el tejido, y se colocó la suspensión en un microtubo de 1.5 ml, el cual contenía los 270 µl restantes de la solución. Se rotuló cada microtubo, con el código del paciente respectivo. Los homogenados se incubaron a 55°C, en baño maría (VWR Scientific Products) por dos horas con agitación. Luego, se centrifugó (5415D, Eppendorf) las muestras a 12 000 rpm, por 13 minutos a temperatura ambiente. Se transfirió el sobrenadante a un nuevo microtubo, rotulado con el código respectivo, y se descartó el pellet. Posteriormente, se precipitó el DNA por adición de 500 µl de etanol al 99.8% (Scharlau, ET0016), se invirtió la muestra por varias veces, y se la centrifugó a 2 000 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente. Se recuperó el pellet (DNA) y descartó el sobrenadante. Se adicionó 1 ml de etanol al 75 % (v/v) y se centrifugó a 1 000 rpm, por 2 minutos a temperatura ambiente; se recuperó el DNA y se descartó el sobrenadante, este lavado se lo realizó dos veces. El microtubo conteniendo el DNA, se lo invirtió y se lo dejó secar sobre papel absorbente, por 15 segundos. Finalmente, al DNA se lo resuspendió por adición de 200 µl de buffer TE (Anexo E).

#### **Cuadro 2.2** Componentes del buffer lisis TES

<i>Componente</i>	<i>Concentración</i>
Tris HCl, pH 7.5	50 mM
EDTA	1 mM
SDS	1% (v/v)

Fuente: Sislema, 2008

Todos los procesos de extracción del DNA, tanto para la cepa control como para las biopsias gástricas, se los realizó en el laboratorio de PRE – PCR.

#### **2.5.8 Cuantificación del DNA**

El DNA de la cepa control y de las muestras de las biopsias gástricas se cuantificó por espectrofotometría usando un programa de cómputo (UV

WINLAB Software, Perkin-Elmer). Se realizó diluciones de las muestras de DNA, colocando en un vial 3 ml de agua destilada estéril y 5 µl de la muestra de DNA; para el blanco se colocó en otro vial 3 005 µl de agua destilada estéril. Se colocó estas soluciones en las cubetas de cuarzo (Perkin-Elmer), se ubicó las cubetas en el espectrofotómetro (Lambda 25 UV/VIS Spectrometer, Perkin-Elmer), y se procedió a medir la absorbancia a 260 nm y 280 nm. Se calculó la concentración y la pureza del DNA usando las fórmulas del Cuadro 2.3. Un valor superior a 1.5 para la pureza del DNA se consideró como adecuado. Los resultados obtenidos se indican en el Anexo H, el 68% (125/184) de las muestras presentaron valores mayores o iguales a 1.5 y el 32% (59/184) presentaron valores menores a 1.5, no obstante estos no influyeron en los resultados de las amplificaciones.

**Cuadro 2.3** Fórmulas para calcular la concentración y pureza del DNA

---


$$\text{Concentración del DNA} = A_{260nm} * \frac{50\mu\text{gDNA}}{\text{ml}} * \text{Factor de dilución}$$

$$\text{Pureza del DNA} = \frac{A_{260nm}}{A_{280nm}}$$


---

$A_{260nm}$  = absorbancia a 260 nm.  $A_{280nm}$  = absorbancia a 280 nm.

Fuente: Surzycki, 1999.

## 2.5.9 Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

### 2.5.9.1 PCR para *H. pylori*

Se realizó la reacción con un volumen total de 51 µl en un termociclador Techne Flexigene (Cambridge, UK). La mezcla de reacción consistió en 200nM de cada primer (Invitrogen) para el gen *16S rRNA* (Cuadro 2.4), 4 µl de la muestra de DNA, y 45 µl de la PCR Supermix (Invitrogen) compuesta por: 22 mM Tris-HCl (pH 8.4), 55 mM KCl, 1.65 mM MgCl<sub>2</sub>, 220 µM dGTP, 220 µM dATP, 220 µM dTTP, 220 µM dCTP, 22 U Taq DNA Polimerasa recombinante/ml y estabilizadores. Las condiciones de reacción fueron: una denaturación inicial a 95°C por 5 minutos; 39 ciclos de denaturación a 95°C por

1 minuto, alineamiento a 55°C por 1 minuto, y extensión a 72°C por 1 minuto; y una extensión final a 72°C por 10 minutos (Sislema, 2008).

### 2.5.9.2 PCR del gen *cagA* de *H. pylori*

La reacción fue realizada con un volumen total de 51 µl en un termociclador Techne Flexigene (Cambridge, UK). La mezcla de reacción consistió en 200nM de cada primer (Invitrogen) para el gen *CagA* (Cuadro 2.4), 4 µl de la muestra de DNA, y 45 µl de la PCR Supermix (Invitrogen) compuesta por: 22 mM Tris-HCl (pH 8.4), 55 mM KCl, 1.65 mM MgCl<sub>2</sub>, 220 µM dGTP, 220 µM dATP, 220 µM dTTP, 220 µM dCTP, 22 U Taq DNA Polimerasa recombinante/ml y estabilizadores. Las condiciones de reacción fueron: una denaturación inicial a 94°C por 10 minutos; 40 ciclos de denaturación a 94°C por 1 minuto, alineamiento a 59°C por 1 minuto, y extensión a 72°C por 1 minuto; y una extensión final a 72°C por 10 minutos. Estas condiciones son una optimización de las descritas por Lage *et al* (1995), básicamente se modificó el número de ciclos de la reacción, de 35 a 40 ciclos.

**Cuadro 2.4** Secuencia de los primers, posiciones de alineamiento, y longitud de los productos de DNA amplificados

<i>Primer</i>	<i>Secuencia</i>	<i>Posición de alineamiento</i>	<i>Longitud del producto (pb)</i>
<i>Gen 16S rRNA</i>			
Forward	5' GCG ACC TGC TGG AAC ATT AC 3'	691–710	139
Reverse	5' CGT TAG CTG CAT TAC TGG AGA 3'	829–809	139
<i>Gen cagA</i>			
Forward	5' AAT ACA CCA ACG CCT CCA AG 3'	2593–2612	400
Reverse	5' TTG TTG CCG CTT TTG CTC TC 3'	2992–2973	400

Fuente: Sislema, 2008 (primer para el gen *16S rRNA*) & Lage *et al*, 1995 (primer para el gen *cagA*).

Para ambas PCRs (del *gen 16S rRNA* y del *gen cagA*) se realizó la mezcla de reacción bajo las especificaciones que requería la PCR Supermix

(Invitrogen). Al mismo tiempo, por cada PCR, se realizó un control positivo y un blanco donde la muestra fue reemplazada con agua grado biología molecular (Invitrogen).

La preparación de las mezclas de reacción para las amplificaciones se realizó en el laboratorio de PRE – PCR, mientras que los procesos de amplificación y visualización de los productos se los realizaron en el laboratorio de POST – PCR.

### **2.5.10 Visualización de las amplificaciones**

Para la detección de los productos de DNA amplificados, se mezcló 10 µl del resultado de la PCR y 2 µl del buffer de carga (Anexo F). Un volumen de 10 µl de la mezcla de cada PCR fue analizado por electroforesis (GelXLUltraV-2, Labnet), en buffer TAE 1X (Anexo G), a 70 Voltios por un lapso de 1 hora. Un gel al 1.6% de agarosa (Ultra Pure Agarose, Invitrogen) fue usado para los productos de la PCR de *H. pylori*. Las amplificaciones de *H. pylori cagA*, se analizó en un gel al 2% de agarosa. Para cada caso, en forma paralela se usó marcadores de peso molecular de 100bp (TrackIt™ 100bp DNA Ladder, Invitrogen) y 1Kb (TrackIt™ 1Kb DNA Ladder, Invitrogen), respectivamente. Se verificó, un control positivo y un blanco, por cada gel realizado.

Posterior a la electroforesis, para la tinción, los geles se incubaron en una solución de SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen), con agitación (RotoMix Type 50800, Thermolyne) 50 rpm por 30 minutos, a temperatura ambiente en oscuridad.

Se visualizó los geles en un transiluminador (Safe Imager™ blue-light, Invitrogen). Los resultados se documentaron mediante fotografías (Cyber-shot DSC-H7, Sony) a los geles de agarosa.

## **2.6 Análisis de Datos**

Para el ingreso y manejo de los datos se utilizó una hoja de cálculo de Microsoft Excel (Microsoft Office Professional Edition 2003, USA). Los datos de los individuos participantes en el estudio se indican en el Anexo I.

Se realizó una estadística descriptiva para: el género y edad de los individuos participantes, diagnósticos histopatológicos, presencia de *H. pylori* por diagnósticos molecular (PCR) e histológico, y presencia del gen *cagA* en las biopsias positivas para *H. pylori*.

Asimismo, se realizó un análisis estadístico de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la PCR para *H. pylori* en comparación con la evidencia histológica.

## 2.6.1 Estadística de la muestra

### 2.6.1.1 Género de los individuos participantes

Se utilizó una equivalencia binaria para representar el género del individuo. Se asignó 1 para el femenino y 0 para el masculino.

### 2.6.1.2 Edad de los individuos participantes

La edad de los individuos participantes se la ingresó directamente en la hoja de cálculo.

## 2.6.2 Estadística de los diagnósticos histopatológicos

Se utilizó una equivalencia numérica (de 1 a 5), como se indica en la Tabla 2.1, para la caracterización del diagnóstico reportado por los informes histopatológicos para cada uno de los individuos participantes.

**Tabla 2.1** Equivalencia del diagnóstico histopatológico

<i>Diagnóstico histopatológico</i>	<i>Equivalencia</i>
Gastritis crónica no atrófica	1
Gastritis crónica atrófica	2
Metaplasia intestinal	3
Displasia	4
Cáncer gástrico	5

### **2.6.3 Estadística del procedimiento diagnóstico para *H. pylori***

#### **2.6.3.1 Diagnóstico por PCR**

##### **2.6.3.1.1 PCR para *H. pylori***

Se utilizó una equivalencia binaria para el resultado de la PCR para *H. pylori*. Se asignó 1 para el positivo y 0 para el negativo. Dónde una amplificación positiva se determinó mediante la visualización en el gel de agarosa de la banda amplificada, mientras que la negativa correspondió a la ausencia de la banda.

##### **2.6.3.1.2 PCR del gen *cag A* de *H. pylori***

Al igual que la PCR para *H. pylori*, se utilizó una equivalencia binaria para el resultado de la PCR del gen *cagA* de *H. pylori*. Se asignó 1 para el positivo y 0 para el negativo.

#### **2.6.3.2 Diagnóstico por histología**

Los resultados histológicos mostraron la presencia de la bacteria indicando la magnitud de la colonización observada en el tejido, así: +, ++, +++; mientras que su ausencia la reportaron como un resultado negativo. Tomando estos datos informativos, se realizó una equivalencia binaria para la presencia de la bacteria. Se asignó 1 para la presencia y 0 para la ausencia de *H. pylori*.

### **2.6.4 Estadística para la determinación de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la PCR para *H. pylori***

Para la determinación de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la PCR para *H. pylori* se realizó una matriz de detección (Tabla 2.2), donde se colocó los resultados obtenidos mediante la prueba molecular (PCR) y los resultados de la evidencia histológica, los cuales fueron tomados como el gold estándar para la demostración de la presencia de *H. pylori*, y se calculó los valores usando las fórmulas indicadas en el Cuadro 2.5.

**Tabla 2.2** Representación de la matriz de detección

Resultado de la prueba	Diagnóstico verdadero		Total
	Enfermos	No Enfermos	
Positivo	Verdadero Positivo (a)	Falso Positivo (b)	a + b
Negativo	Falso Negativo (c)	Verdadero Negativo (d)	c + d
<b>Total</b>	a + c	b + d	a + b + c + d

**Cuadro 2.5** Fórmulas para el cálculo de sensibilidad, especificidad y valor predictivo

---


$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{a + c}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{d}{b + d}$$

$$\text{Valor predictivo de una prueba positiva} = \frac{a}{a + b}$$

$$\text{Valor predictivo de una prueba negativa} = \frac{d}{c + d}$$


---

a = Verdadero Positivo  
b = Falso Positivo  
c = Falso Negativo  
d = Verdadero Negativo

Fuente: Morton, Hebel & Mc Carter, 1993.

### 2.6.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados se usó un programa de cómputo SPSS versión 11.5 (SPSS Inc. Chicago, Illinois USA). En base a los resultados de los diagnósticos histopatológicos, los resultados de las PCRs (de *H. pylori* y del gen *cagA*), y el género y edad de los individuos; se calculó mediante un análisis de regresión logística el valor de significancia P, el cuantificador de riesgo OR (odds ratio) y los intervalos con un 95% de confianza. Este análisis se realizó para la gastritis crónica no atrófica, gastritis crónica atrófica y para la metaplasia intestinal. Además, se realizó un análisis de Chi-cuadrado con un 95% de confianza, para comparar la prevalencia de *H. pylori cagA+* entre los géneros femenino y masculino, en los individuos infectados con *H. pylori*.

Los resultados de los análisis estadísticos se consideraron significativos cuando mostraron un valor de P menor a 0.05, caso contrario se

los consideró como estadísticamente no significativos (Dawson & Trapp, 2002).

### **CAPÍTULO 3: RESULTADOS**

#### **3.1 Individuos participantes en el estudio**

De un total de 226 pacientes, los informes histopatológicos fueron disponibles para 184 individuos (Anexo I). Los individuos participantes consistieron en 103 mujeres y 81 varones, con una edad promedio de 46.8 años y un rango de edad de 15 a 86 años (Tabla 3.1).

**Tabla 3.1** Individuos participantes en el estudio

<i>Individuos participantes</i>	
<i>(n = 184)</i>	
Mujeres	56.0 % (103/184)
Varones	44.0 % (81/184)
Edad promedio	46.8 años
Rango de edad	15 a 86 años

#### **3.2 Frecuencia de las patologías gástricas en los individuos participantes**

Todos los individuos participantes en este estudio presentaron algún tipo de patología gástrica. Aproximadamente la mitad (50.5%) de los pacientes presentaron gastritis crónica no atrófica, y el 45.5% restante comprendió a las patologías gástricas más severas. La gastritis crónica atrófica y metaplasia intestinal se presentaron en un 32.1% y 16.3%, respectivamente. El cáncer gástrico solamente se presentó en dos individuos, y ninguno de los resultados histopatológicos indicó la manifestación de displasia en los individuos participantes (Tabla 3.2).



**Tabla 3.2** Frecuencia de las patologías gástricas en los individuos participantes

<i>Histopatología</i>	<i>Frecuencia n (%)</i>
Gastritis crónica no atrófica	93/184 (50.5)
Gastritis crónica atrófica	59/184 (32.1)
Metaplasia intestinal	30/184 (16.3)
Displasia	0/184 (0.0)
Cáncer gástrico	2/184 (1.1)

### 3.3 Detección de *H. pylori* mediante el diagnóstico histológico y molecular

Los resultados del diagnóstico histológico y molecular para *H. pylori* discreparon. Evidenciándose una mayor detección de la bacteria, 75.5%, usando el diagnóstico molecular por PCR; mientras que, la evidencia histológica indicó una presencia del 63.0%. No obstante, ambos diagnósticos demostraron una alta prevalencia para *H. pylori* en los individuos analizados (Tabla 3.3).

**Tabla 3.3** Detección de *H. pylori* mediante el diagnóstico histológico y molecular

<i>Tipo</i>	<i>Diagnóstico</i>	
	<i>Histológico n (%)</i>	<i>Molecular (PCR) n (%)</i>
<i>H. pylori</i> negativo	68/184 (37.0)	45/184 (24.5)
<i>H. pylori</i> positivo	116/184 (63.0)	139/184 (75.5)

### 3.3.1 Sensibilidad, especificidad, y valores predictivos de la PCR para *H. pylori* comparado con la evidencia histológica

Tomando como prueba *gold estándar* al diagnóstico histológico, se determinó que, la prueba molecular adicionalmente detectó 23 individuos positivos (12.5%) para *H. pylori* (Tabla 3.4). Para los 23 casos que indicaban la ausencia de la bacteria por el diagnóstico histológico y su presencia por la prueba de PCR, se realizó nuevamente el proceso de detección molecular con la biopsia de respaldo, y se ratificó el resultado obtenido inicialmente. De estos 23 individuos (Código de los pacientes: 21, 32, 52, 69, 71, 74, 75, 76, 79, 80, 82, 85, 87, 89, 94, 107, 111, 116, 121, 166, 170, 208 y 224), 11 presentaron un diagnóstico de gastritis crónica, 6 un diagnóstico de gastritis crónica con atrofia y 6 un diagnóstico de metaplasia intestinal (Anexo I).

**Tabla 3.4** Resultado del diagnóstico molecular en relación con la evidencia histológica

<i>PCR para H. pylori</i>	<i>Diagnóstico verdadero</i>		<b>Total</b>
	<i>Enfermos</i>	No Enfermos	
Positivo	116	23	139
Negativo	0	45	45
<b>Total</b>	116	68	184

La sensibilidad y valor predictivo negativo de la prueba molecular por PCR fue del 100%; mientras que, la especificidad y valor predictivo positivo, descendieron a un 66.2% y 83.5%, respectivamente (Tabla 3.5), producto de la discrepancia en los 23 casos referidos anteriormente.

**Tabla 3.5** Sensibilidad, especificidad, y valores predictivos de la PCR para *H. pylori* comparado con la evidencia histológica

---

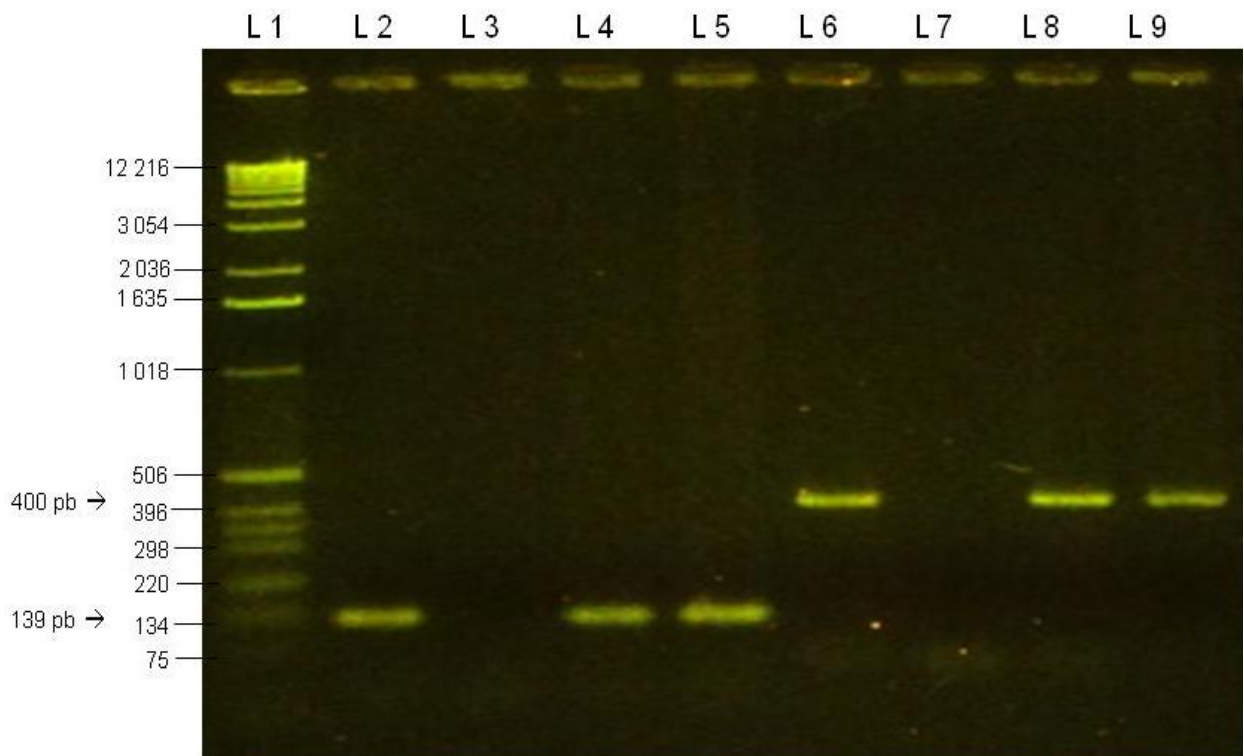
*PCR para H. pylori*

---

Sensibilidad	100 %
Especificidad	66.2 %
Valor predictivo de una prueba positiva	83.5 %
Valor predictivo de una prueba negativa	100 %

### 3.4 Visualización de las amplificaciones

La visualización del resultado de las amplificaciones para *H. pylori* del gen *16S rRNA* que da un producto de 139 pb y del gen *cagA* que da un producto de 400 pb, se verificaron usando un control positivo y un blanco por cada gel que realizado (Figura 3.1). La modificación del número de ciclos para la amplificación del gen *cagA* de *H. pylori* resultó en una mejor visualización del fragmento amplificado.



**Figura 3.1** Visualización de los productos de amplificación de la PCR para el gen *16S rRNA* y para el gen *cagA*, de *H. pylori*.

Línea 1: marcador molecular de 1 kb (75 a 12 216 pb). Línea 2: producto de amplificación del control positivo de *H. pylori*. Línea 3: blanco de la amplificación para *H.*

*pylori*. Líneas 4 y 5: productos de amplificación para *H. pylori*, de las muestras 99 y 106. Línea 6: producto de amplificación del control positivo para el genotipo *cagA* de *H. pylori*. Línea 7: blanco de la amplificación para el genotipo *cagA* de *H. pylori*. Líneas 8 y 9: productos de amplificación para el genotipo *cagA* de *H. pylori*, de las muestras 99 y 106.

### 3.5 Estatus del genotipo *cagA* en los individuos infectados con *H. pylori*

De las 139 muestras positivas para *H. pylori*, se realizó la PCR para el genotipo *cagA*. Se obtuvo un 29.5% de prevalencia para *cagA* entre los individuos infectados con *H. pylori*, siendo la mayoría de individuos negativos para el genotipo analizado (Tabla 3.6).

La presencia de *H. pylori* fue más frecuente en la gastritis crónica no atrófica y la gastritis crónica atrófica, en un 47.5% y 35.3%, respectivamente, comparada con la metaplasia intestinal, que fue del 17.3%. No obstante, entre los individuos infectados con cepas de *H. pylori* positivas para *cagA*, se observó pequeñas diferencias entre la frecuencia de este genotipo y su presencia en la gastritis no atrófica (39.0%), gastritis atrófica (34.1%) y metaplasia intestinal (26.8%) (Tabla 3.6).

**Tabla 3.6** Estatus del genotipo *cagA* en los individuos infectados con *H. pylori*

<i>Histopatología</i>	<i>H. pylori</i> positivo por PCR	
	<i>n</i> = 139/184 (75.5%)	<i>n cagA+</i> = 41/139 (29.5%)
Gastritis crónica no atrófica	66/139 (47.5)	16/41 (39.0)
Gastritis crónica atrófica	49/139 (35.3)	14/41 (34.1)
Metaplasia intestinal	24/139 (17.3)	11/41 (26.8)

### 3.6 Análisis Estadístico

#### 3.6.1 Frecuencia del genotipo *cagA*+ asociada con el género de los individuos infectados con *H. pylori*

De los 139 individuos positivos para la infección por *H. pylori*, el porcentaje de mujeres que albergaron cepas positivas para el gen *cagA* fue 20.5%; mientras que, en los hombres la proporción fue mayor, del 39.4%. Relacionando la frecuencia del genotipo *cagA* para *H. pylori* con el género de los individuos infectados por la bacteria, mediante la prueba de Chi cuadrado; se encontró que, con una diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0.02$ ), la presencia de cepas positivas para *cagA* esta relacionada con las bacterias que colonizan la mucosa gástrica de los hombres (Tabla 3.7).

**Tabla 3.7** Frecuencia del genotipo *cagA*+ asociado con el género de los individuos infectados con *H. pylori*

<i>Género</i>	<i>Casos n (%)</i>	<i>Valor P</i>
Femenino	15/73 (20.5)	0.02
Masculino	26/66 (39.4)	

#### 3.6.2 Relación entre el estatus de *cagA* con género y edad de los individuos infectados con *H. pylori*

**Tabla 3.8** Riesgo para el estatus *cagA*+ asociado al género y edad de los individuos infectados con *H. pylori*

	<i>Casos n (%)</i>	<i>Valor P</i>	<i>OR (CI, 95%)</i>
Edad	139/139 (100.0)	0.51	1.01 (0.98 a 1.04)
Género			
Femenino	73/139 (52.5)	0.02	0.39 (0.18 a 0.84)

Masculino 66/139 0.02 2.57 (1.19 a 5.52)  
(47.5)

---

CI = Intervalo de confianza

Mediante el análisis de regresión logística, a pesar que no existió una relación estadísticamente significativa entre la infección con cepas *cagA+* y la edad de los individuos ( $P = 0.51$ ), si se evidenció que el género del individuo se relaciona con el genotipo que presenta la bacteria que coloniza la mucosa gástrica ( $P = 0.02$ ). Entre los individuos infectados con *H. pylori*, los de género masculino tienen un riesgo de 2.6 veces más de lo normal ( $OR = 2.57$ ;  $CI, 95\% = 1.19$  a  $5.52$ ), que su infección sea por cepas de *H. pylori cagA+*. Mientras que el ser mujer resultó en un factor protector ( $OR = 0.39$ ;  $CI, 95\% = 0.18$  a  $0.84$ ) contra la infección por cepas *cagA+* (Tabla 3.8).

### 3.6.4 Relación entre la gastritis no atrófica, la gastritis atrófica, y la metaplasia intestinal con la edad y género de los individuos participantes

**Tabla 3.9** Riesgo para la gastritis no atrófica, la gastritis atrófica, y la metaplasia intestinal en los 184 individuos participantes en el estudio, asociado con la edad y género

	Casos <i>n</i> (%)	Valor <i>P</i>	OR (CI, 95%)
Gastritis no atrófica	93/184 (50.5)		
Edad		< 0.0001	0.96 (0.94 a 0.98)
Género <sup>F</sup>		0.31	1.39 (0.74 a 2.62)
Gastritis atrófica	59/184 (32.1)		
Edad		0.96	1.00 (0.98 a 1.02)
Género <sup>F</sup>		0.35	0.73 (0.39 a 1.39)
Metaplasia Intestinal	30/184 (16.3)		
Edad		< 0.0001	1.07 (1.04 a 1.10)

Género<sup>F</sup> 0.82 0.90 (0.37 a 2.19)

F = Género femenino

CI = Intervalo de confianza

Para los 184 pacientes participantes, independientemente si presentan o no infección por *H. pylori*, el género de los individuos no se relacionó con la gastritis no atrófica, gastritis atrófica, y metaplasia intestinal, por lo que estas patologías no están condicionadas al género del paciente. Si bien, la edad del individuo mostró ser un factor significativo para la presencia de gastritis no atrófica ( $P < 0.001$ ) y metaplasia intestinal ( $P < 0.001$ ), éste factor mostró estar asociado con un riesgo normal en la gastritis no atrófica (OR = 0.96; CI, 95% = 0.94 a 0.98) y en el caso de la metaplasia el riesgo ligeramente aumenta con la edad (OR = 1.07; CI, 95% = 1.04 a 1.10). En el caso de la gastritis atrófica, esta manifestación clínica no tuvo una relación estadísticamente significativa con la edad del individuo (Tabla 3.9).

### 3.6.4 Relación entre la gastritis no atrófica, la gastritis atrófica, y la metaplasia intestinal con el estatus de *cagA* en *H. pylori*

**Tabla 3.10** Riesgo para la gastritis no atrófica, la gastritis atrófica, y la metaplasia intestinal (asociada con la edad y género), entre los individuos infectados con *H. pylori cagA+* y los infectados con *H. pylori cagA-*

	Casos <i>n</i> (%)	Valor <i>P</i>	OR (CI, 95%)
Gastritis no atrófica	66/139 (47.5)	0.17	0.56 (0.24 a 1.28)
Gastritis atrófica	49/139 (35.3)	0.77	0.88 (0.37 a 2.07)
Metaplasia Intestinal	24/139 (17.3)	0.03	3.52 (1.17 a 10.59)
Edad		0.0001	1.08 (1.04 a 1.12)
Género <sup>F</sup>		0.83	1.12 (0.39 a 3.22)

F = Género femenino

CI = Intervalo de confianza

La presencia de la infección con cepas *H. pylori cagA* positivas no mostró estar asociada con la gastritis no atrófica ( $P = 0.17$ ) ni con la gastritis atrófica ( $P = 0.77$ ), en comparación con los individuos que presentan las mismas patologías y que están infectados con cepas negativas para *cagA* (Tabla 3.10).

No obstante, la infección con *H. pylori cagA+* si se relacionó significativamente con la metaplasia intestinal ( $P = 0.03$ ) y aumentó el riesgo para esta patología en 3.5 veces ( $OR = 3.52$ ;  $CI, 95\% = 1.17$  a  $10.59$ ), en comparación con los individuos que tienen metaplasia pero que están infectados con cepas de *H. pylori cagA-*. También, entre los individuos infectados con la bacteria, la edad se presentó como un factor significativamente relacionado con la metaplasia ( $P = 0.0001$ ), aunque el riesgo se vio incrementado levemente de lo normal ( $OR = 1.08$ ;  $CI, 95\% = 1.04$  a  $1.12$ ) por causa de este factor; mientras que, el género de los individuos no se relacionó significativamente ( $P = 0.83$ ) con esta patología (Tabla 3.10).

#### **CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN**

El presente estudio reportó la identificación del genotipo *cagA* de *H. pylori* en muestras de DNA extraído a partir de biopsias gástricas. Estudios previos han usado amplificaciones de PCR de los genes de ureasa de *H. pylori*, para establecer la presencia de la bacteria en muestras de DNA (Lage *et al*, 1995; Mobley, 2001); sin embargo, la amplificación de regiones conservadas en el DNA bacteriano, como lo es el DNA codificado por el gen *rRNA 16S*, es una metodología ampliamente empleada, debido a que amplifica secuencias específicas de DNA de la bacteria, mientras que no amplifica secuencias en el DNA humano (McCabe *et al*, 1995). *H. pylori* contiene dos copias del gen de *rRNA 16S* (Kusters *et al*, 2006); por lo que este estudio comprobó una vez más



que, el primer que detecta un segmento del gen *rRNA 16S* y amplifica una secuencia específica de 139 pb dentro de este gen, sirve para indicar la presencia de la bacteria, por medio del diagnóstico molecular a partir de las biopsias gástricas (Weiss, Mecca, da Silva & Gassner, 1994; Sislema, 2008).

En los 184 individuos participantes en el estudio, la prevalencia encontrada para *H. pylori* mediante el diagnóstico molecular por PCR fue del 75.5%, resultado que es conforme al reportado previamente por Sempértegui *et al* (2007) y que indica una alta tasa de infección por *H. pylori* en la población ecuatoriana. Sin embargo, al comparar la técnica de PCR con la evidencia histológica, se obtuvo una especificidad del 66.2% para el diagnóstico molecular, debido a la divergencia en los resultados de detección en 23 casos (12.5%) de los 184 analizados. En los casos descritos, el diagnóstico histológico determina ausencia de la bacteria, contrastando con la detección positiva indicada por la PCR, lo cual pudiera deberse a que la cantidad de microorganismos de *H. pylori* era insuficiente para la detección por tinción histológica. Los 23 individuos referidos presentaron gastritis crónica, de los cuales en 11 fue de tipo leve, en 6 estuvo acompañada de atrofia y los 6 restantes presentaron metaplasia intestinal. Por lo que, en el primer caso (11 individuos) pudo deberse a que la infección estaba en su etapa inicial, cuando la bacteria está aún en bajas cantidades en la mucosa gástrica, mientras que en los otros dos casos (12 individuos) la razón pudo ser que el considerable daño del epitelio gástrico conllevó a una declinación para la positividad de la bacteria (Dixon, 2001). Se descarta que estos resultados sean producto de la contaminación durante el procesamiento de las muestras en el laboratorio; debido a que, los protocolos usados en este estudio ya han sido previamente estandarizados y probados (Sislema, 2008), también porque se verificó simultáneamente controles en cada reacción de PCR, y al hecho que al repetir la prueba molecular con la biopsia de respaldo para estos 23 casos se ratificó los resultados obtenidos inicialmente. Asimismo, una mayor detección de *H. pylori* usando la prueba molecular ya ha sido reportado anteriormente (Zsikla *et al*, 2006; Sislema, 2008). La sensibilidad que se encontró para la PCR de *H. pylori* es del 100%, dejando en claro que, el diagnóstico molecular por PCR es capaz de detectar a este microorganismo, cuando la bacteria esta en bajas

cantidades en la mucosa gástrica, y revelando así su absoluta sensibilidad al compararlo con el resultado histológico.

Este estudio verificó una vez más el uso del primer que da un producto de 400 pb, para detectar el gen *cagA* en muestras de biopsias gástricas (Lage *et al*, 1995). La prevalencia que se encontró para el genotipo *cagA* fue del 29.5% (41/139), en los individuos infectados con *H. pylori*; anteriormente, Debets-Ossenkopp *et al* (2003) indicó una frecuencia del 92.1% para el genotipo *cagA* en pacientes ecuatorianos, sin embargo, ese estudio fue relativamente pequeño, solamente consideró 38 muestras. En el presente trabajo, se analizó el genotipo *cagA* en 139 muestras positivas para *H. pylori*. No obstante, esta diferencia encontrada en la prevalencia del genotipo *cagA*, entre las dos muestras de individuos ecuatorianos analizadas, sugiere la existencia de una marcada variación geográfica para la prevalencia de los genotipos de *H. pylori* (Suerbaum & Achtman, 2001), lo cual debería ser motivo de futuras investigaciones. Esta variación tan marcada para la prevalencia del genotipo *cagA* dentro de la población de un mismo país, también se ha reportado previamente en Argentina (Catalano *et al*, 2001; Mattana *et al*, 2007).

La baja tasa de prevalencia para el genotipo *cagA* encontrada en este estudio, concuerda con las registradas en Estados Unidos, 22.9% (Cho *et al*, 2005); en Israel, 25.5% (Benenson *et al*, 2002); en Jordania, 26.4% (Nimri *et al*, 2006); en Chile, 24.2% (García *et al*, 2006); y en Argentina, 30% (Mattana *et al*, 2007). Sin embargo, en los países latinoamericanos, se han reportado elevadas tasas para la prevalencia del genotipo *cagA* de *H. pylori*, a excepción de Chile y en el estudio hecho por en Mattana *et al* (2007) en Argentina, registrándose en Venezuela un 51.0% (Perrone *et al*, 2005), en Costa Rica un 67.4% (Occhialini *et al*, 2001), en Brasil un 71.0% (Rota *et al*, 2001), en México un 78.9% (Torres *et al*, 2002), en Perú un 82.4% (Zamudio *et al*, 2002), en Argentina un 84.0% (Catalano *et al*, 2001) y en Colombia un 90.4% (Nogueira *et al*, 2001); aunque, en los países asiáticos como Corea, Taiwán y China, la prevalencia para *cagA* es prácticamente absoluta, es decir, cercana al 100% (Miehlke *et al*, 1996; Lai *et al*, 2002; Pan *et al*, 1997).

En las diferentes poblaciones, la relación entre la positividad para *cagA* y la patogénesis de las enfermedades gástricas, en los individuos infectados con *H. pylori* es controversial. Varios estudios han encontrado que, las cepas que poseen el gen *cagA* (Peek *et al*, 1995; Citty *et al*, 2002; Godoy *et al*, 2003; Konráðsson *et al*, 2003; Saribasak *et al*, 2004; Erzin *et al*, 2006) o cepas aisladas de pacientes con anticuerpos para la proteína CagA (Cover *et al*, 1995; Beales *et al*, 1996; Ching *et al*, 1996; Orsini *et al*, 1998; Harris *et al*, 2003) son más comunes en pacientes con úlcera péptica y úlcera duodenal, que en los pacientes con patologías no severas. Asimismo, investigaciones señalan que, la infección con cepas de *H. pylori cagA* positivas en comparación con las cepas *cagA* negativas incrementan el riesgo para el desarrollo del cáncer gástrico (Blaser *et al*, 1995; Parsonnet *et al*, 1997; Shimoyama *et al*, 1998; Rugge *et al*, 1999; Enroth *et al*, 2000). Sin embargo, otros estudios no han dilucidado esta asociación significativa, entre el estatus de *cagA* y las enfermedades de úlcera péptica (Pan *et al*, 1997; Zhenga *et al*, 2000; Andreson *et al*, 2002; Serin *et al*, 2003) y úlcera duodenal (Owen *et al*, 1994; Sokic-Milutinovic *et al*, 2004); aunque, esto puede deberse a que estos estudios se ha generado en regiones en las cuales la prevalencia de *H. pylori cagA+* es elevada, por lo que este gen no puede ser usado como un marcador para el riesgo del desarrollo de patologías gástricas más severas en estas poblaciones (Lai *et al*, 2002; Zhou *et al*, 2004). No obstante, en este estudio a pesar que todos los individuos presentaron algún tipo de patología gástrica no se registraron individuos con enfermedades de úlcera péptica o úlcera duodenal; y los dos únicos pacientes con cáncer gástrico no estuvieron infectados con *H. pylori*, hecho que pudo deberse a que la positividad para la presencia de la bacteria disminuye, e inclusive esta ausente en las áreas del estómago que presentan gran atrofia glandular y metaplasia, a causa que este microorganismo solamente coloniza el epitelio gástrico y su supervivencia esta condicionada por un ambiente parcialmente ácido, lo cual no descarta su rol en la patogénesis (Dixon, 2001). Por lo que, posteriores investigaciones deben considerar el uso de un protocolo a ser empleado por los médicos gastroenterólogos, para la toma de las muestras de biopsias gástricas, las cuales deberían ser obtenidas preferentemente de la zona circundante a la lesión.

Dentro de la población analizada se encontró que, la presencia de *cagA* esta relacionada significativamente con la metaplasia intestinal ( $P = 0.03$ ), y que en los individuos infectados con estas cepas su riesgo se incrementó en 3.5 veces ( $OR = 3.52$ ;  $CI, 95\% = 1.17$  a  $10.59$ ) para manifestar la metaplasia intestinal, en comparación con los individuos que están infectados con cepas *cagA* negativas, similares resultados han sido reportados por otras investigaciones (Kuipers *et al*, 1995; Pilotto *et al*, 1998; Sozzi *et al*, 1998; Warburton *et al*, 1998; Nogueira *et al*, 2001; Farinati *et al*, 2003; Zambon *et al*, 2003). Asimismo, estudios que han evaluado la presencia simultanea de cepas *cagA+* y *cagA-* en un mismo paciente, han encontrado que el estatus para *cagA* puede jugar un rol importante en el desarrollo de la metaplasia intestinal (Figura *et al*, 1998) y que *cagA* puede contribuir en las diferencias que se presentan en los resultados patológicos (Fantry *et al*, 1996). Lo cual sugiere que, el estatus de *cagA* podría ser usado como un parámetro útil para definir un subgrupo de pacientes, que potencialmente tendrían un riesgo mayor para el desarrollo de adenocarcinoma gástrico (Sozzi *et al*, 1998), debido a que la metaplasia intestinal es un cambio de la mucosa gástrica precursor para esta oncopatología (Asaka *et al*, 2001).

Además, estudios previos han encontrado una relación significativa entre la positividad para *cagA* con la presencia de gastritis atrófica, en los individuos infectados con *H. pylori* (Kuipers *et al*, 1995; Beales *et al*, 1996; Pilotto *et al*, 1998; Sozzi *et al*, 1998; Warburton *et al*, 1998; Maaros *et al*, 1999; Farinati *et al*, 2003). En el presente estudio, no fue estadísticamente significativa la relación entre la presencia *cagA* con la gastritis crónica no atrófica, ni con la atrófica; esto puede deberse a que, a parte de los factores bacterianos, los factores de tipo ambiental, estarían relacionados en el desarrollo de estas patologías gástricas (Harris *et al*, 2003).

Al mismo tiempo, este estudio encontró una significativa diferencia entre la presencia del genotipo *cagA+* con el género de los individuos infectados por la bacteria ( $P = 0.02$ ), hallazgo que ya ha sido reportado anteriormente; y demuestra que, la prevalencia para este genotipo es más alta en el género masculino que en el femenino (Jafarzadeh *et al*, 2007). Los

resultados del presente estudio indican que, entre los pacientes infectados con *H. pylori*, los de género masculino corren un riesgo de 2.6 veces (OR = 2.57; CI, 95% = 1.19 a 5.52) que las cepas que colonizan su mucosa gástrica sean positivas para el genotipo *cagA*. Aunque, también se ha reportado una asociación significativa entre la edad de los pacientes y la prevalencia del genotipo *cagA* (Ławniczak & Starzyńska, 2002; Dharne *et al*, 2007; Jafarzadeh *et al*, 2007), en este estudio la edad no estuvo asociada significativamente a la infección por cepas *H. pylori cagA+*, relación que tampoco ha sido encontrada en la población chilena (Harris *et al*, 2003).

## **CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES**

La infección por *H. pylori* esta ampliamente distribuida a nivel mundial, no obstante existe una notable diferencia en su prevalencia dentro y entre países. Los estudios epidemiológicos indican que las poblaciones de países en desarrollo presentan una mayor prevalencia en comparación con las de los países desarrollados, siendo los factores que causan esta diferencia los relacionados con el estatus socioeconómico, la asistencia médica, el saneamiento, las condiciones de vida de sus habitantes y principalmente la tasa de adquisición de la bacteria en la niñez. Ecuador forma parte del grupo de países en vías de desarrollo, y su prevalencia para la infección por *H. pylori* es alta, tanto en la población adulta como en la infantil.

*H. pylori* es un agente etiológico ya establecido para la gastritis crónica y es un factor que predispone para enfermedades gástricas más severas como la ulceración péptica, el cáncer gástrico y linfomas tipo MALT. Por lo general, los países con elevadas tasas de infección por *H. pylori* tienen paralelamente una incidencia mayor de cáncer gástrico. La alta prevalencia de *H. pylori* registrada en Ecuador esta acompañada de una alta incidencia para el cáncer gástrico. En este estudio todos los individuos presentaron gastritis crónica, y los cambios histológicos: atrofia y metaplasia, considerados precursores para el cáncer gástrico, se incluyeron en la mitad de la población analizada.

La infección por *H. pylori* también es prevalente en poblaciones asintomáticas, lo cual refleja que no todas las cepas son igualmente patógenas. Esta diferencia puede explicarse por la expresión de determinados factores de virulencia en cepas específicas, como lo es la expresión de CagA, proteína codificada por el gen *cagA* de la isla de patogenicidad *cag* (PAI *cag*).

El DNA de PAI *cag* contiene 31 fases de lectura abierta, además de CagA codifica un sistema de secreción tipo IV específico para *Helicobacter pylori*, que permite la translocación de CagA hacia la célula hospedera. La PAI *cag* induce en la célula las vías de señalización para la traducción, con la finalidad que éstas contribuyan a la virulencia de *H. pylori*. Existen dos mecanismos para la inducción de estas vías, uno dependiente de CagA y otro independiente de este factor.

En el mecanismo dependiente, CagA se fosforila en el interior de la célula hospedera mediante un residuo de tirosina por una quinasa celular todavía no identificada. Su función molecular aún se desconoce, estudios sugieren que CagA esta involucrada en (1) cambios de la morfología de la célula hospedera, que constituyen en rearrreglos del citoesqueleto de actina que dan lugar a la formación de pedestales debajo de la bacteria que esta adherida a la mucosa; y (2) en la inducción de cambios en el estado de fosforilación de distintas proteínas celulares, que activan las cascadas de quinasas que a su vez fosforilan a los factores de transcripción e inician las vías requeridas para el crecimiento y diferenciación celular. Por lo que, el hecho que CagA interfiera en el ciclo celular, brinda una posible explicación para el aumento del cáncer gástrico debido a la infección por cepas *cagA* positivas.

El mecanismo independiente de CagA, induce a las células epiteliales gástricas para que secreten interleuquina 8 (IL-8). La IL-8 es la principal quimioquina causante de la infiltración de neutrófilos en el sitio infectado, lo que da como resultado un fuerte proceso inflamatorio en la mucosa gástrica, esto ha conllevado a que a las cepas portadoras de la PAI *cag* se las denomine como “proinflamatorias”.

La función de la PAI *cag* en *H. pylori* y su relación con las patologías gástricas ha sido motivo de investigación desde su descubrimiento en 1993, frecuentemente, estos estudios se han basado en amplificaciones del gen *cagA* por PCR, como marcador para la presencia de la PAI *cag*. Se ha reportado que las cepas de *H. pylori cagA+* afectan a la proliferación de las células epiteliales gástricas, trastornan la diferenciación epitelial y atenúan la apoptosis; además, se las ha asociado con enfermedades de ulceración péptica y duodenal, con altos grados de inflamación gástrica, con la presencia atrofía y metaplasia intestinal, y con el incremento del riesgo para cáncer gástrico sobre el riesgo asociado con la infección solamente de *H. pylori*.

Existe una marcada variación geográfica para la prevalencia de los genotipos de *H. pylori*. Las tasas reportadas para el genotipo *cagA+* son bajas en los países desarrollados, mientras que en la mayoría de los países en vías de desarrollo son elevadas. No obstante, entre las cepas de *H. pylori* que infectan a los ecuatorianos analizados en este estudio, un bajo porcentaje es del genotipo *cagA+*.

La prevalencia del genotipo *cagA+* de *H. pylori* también puede estar relacionada con factores del hospedero, como el género y la edad del individuo infectado por la bacteria. Esta investigación demostró la existencia de una relación significativa entre la presencia del genotipo *cagA+* con el género de los pacientes infectados por *H. pylori*, siendo mayor en los del género masculino.

Este estudio comprobó la hipótesis alternativa, que enuncia que “las cepas de *Helicobacter pylori* genotipo *cagA* positivo están relacionadas con patologías gástricas más severas”, con un nivel de confianza del 95%. La infección con cepas *cagA+* aumenta el riesgo en 3.5 para la manifestación de metaplasia intestinal, en comparación con la infección con cepas de *H. pylori cagA* negativas.

Finalmente, la PCR para *H. pylori* puede usarse como un método diagnóstico para determinar la infección por la bacteria. Las ventajas de este método molecular incluyen, una alta sensibilidad, alta especificidad, resultados rápidos y no requiere condiciones exigentes para el transporte de las muestras.

Además, puede permitir la detección rápida de la resistencia a los antimicrobianos mediante la detección de mutaciones asociadas a los diversos antibióticos, así como la identificación de cepas virulentas mediante la genotipificación de las mismas, como lo demuestra este estudio. En la actualidad, la PCR constituye una herramienta de investigación para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y en futuro cercano podría convertirse en un método clínico de uso rutinario.

## **CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA**

ALI, M., Khan, A., Tiwari, S., Ahmed, N., Rao, L. & Habibullah, C. (2005). Association between *cag*-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. World journal of gastroenterology, 11(43), 6815-6822.

ALM, R. & Noonan, B. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). The Genome. Helicobacter pylori. Physiology and genetics (Chapter 5). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

ANDERSON, L., Murphy, S., Johnston, B., Watson, P., Ferguson, H., Bamford, K., Ghazy, A., McCarron, P., Mc Guigan, J., Reynolds, J., Comber, H. & Murray, L. (2007). Relationship between *Helicobacter pylori* infection and gastric atrophy and the stages of the oesophageal inflammation, metaplasia, adenocarcinoma sequence: results from the FINBAR case-control study. Gut [on line]. Downloaded on 29 April 2008, from: <http://gut.bmj.com/cgi/rapidpdf/gut.2007.132662v1>



ANDRESON, H., Lõivukene, K., Sillakivi, T., Maaros, H., Ustav, M., Peetsalu, A. & Mikelsaar, M. (2002). Association of *cagA* and *vacA* Genotypes of *Helicobacter pylori* with Gastric Diseases in Estonia. Journal of clinical microbiology, 40(1), 298-300.

APOSTOLOPOULOS, P., Vafiadis-Zouboulis, I., Tzivras, M., Kourtessas, D., Katsilambros, N. & Archimandritis, A. (2002). *Helicobacter pylori* (*H pylori*) infection in Greece: the changing prevalence during a ten-year period and its antigenic profile. BMC gastroenterology, 16(2), 11.

ARAYA, J., Anabalón, L., Roa, I., Bravo, M., Villaseca, M., Guzmán, P. & Roa, J. (2004). Association between *Helicobacter pylori* genotype and the severity of gastritis in infected adults. Revista médica de Chile, 132(11), 1345-1354.

ASAKA, M., Sepúlveda, A., Sugiyama, T. & Graham, D. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Gastric Cancer. Helicobacter pylori. Physiology and genetics (Chapter 7). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

ASRAT, D., Nilsson, I., Mengistu, Y., Kassa, E., Ashenafi, S., Ayenew, K., Wadström, T., & Abu-Al-Soud, W. (2004). Prevalence of *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genotypes in Ethiopian dyspeptic patients. Journal of clinical microbiology, 42(6), 2682-2684.

BACKERT, S., Schwarz, T., Miehlke, S., Kirsch, C., Sommer, C., Kwok, T., Gerhard, M., Goebel, U., Lehn, N., Koenig, W. & Meyer T. (2004). Functional analysis of the *cag* pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from

patients with gastritis, peptic ulcer, and gastric cancer. Infection and immunity, 72(2), 1043-1056.

BAGNOLI, F., Buti, L., Tompkins, L., Covacci, A. & Amiela, M. (2005). *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. Proceedings of the national academy of sciences of United States of America, 102 (45), 16339-16344.

BEALES, I., Crabtree, J., Scunes, D., Covacci, A. & Calam, J. (1996). Antibodies to CagA protein are associated with gastric atrophy in *Helicobacter pylori* infection. European journal of gastroenterology and hepatology, 8(7), 645-649.

BENENSON, S., Halle, D., Rudensky, B., Faber, J., Schlesinger, Y., Branski, D., Rabinowitz, N. & Wilschanski, M. (2002). *Helicobacter pylori* genotypes in Israeli children: the significance of geography. Journal pediatric gastroenterology and nutrition, 35(5), 680-684.

BLASER, M., Perez-Perez, G., Kleanthous, H., Cover, T., Peek, R. & Chyou, P. (1995). Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of stomach. Cancer research, 55(10), 2111-2115.

BOMMELAER, G., Bruley Des Varannes, S., Fléjou, J., Matysiak, T., Poynard, T., Richard, A., Slama, A., Mégraud, F. & Groupe d'Etude HELIGASTRE. (2001). CagA status and virulence of *Helicobacter pylori* strains. Results of a French multicentric prospective study. Gastroentérologie clinique et biologique, 25(12), 1084-1089.

BROWNER, W., Blick, D., Newman, T. & Hulley, S. (1988). S. Hulley & S. Cumming (Eds). Estimating simple size and power. Designing clinical research. Baltimore MD: Williams and Wilkins.

CABRAL, M., Mendes, C., Castro, L., Cartelle, C., Guerra, J., Queiroz, D., & Nogueira, A. (2006). Apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis is related to *cagA* status. Helicobacter. 11(5), 469-476.

CABRAL, M., Oliveira, C., Mendes, C., Guerra, J., Queiroz, D., Rocha, G., Rocha, A., Nogueira, A. (2007). Gastric epithelial cell proliferation and *cagA* status in *Helicobacter pylori* gastritis at different gastric sites. Scandinavian journal of gastroenterology, 42(5), 545-554.

CAMORLINGA-PONCE, M., Romo, C., González-Valencia, G., Muñoz, O. & Torres, J. (2004). Topographical localization of *cagA* positive and *cagA* negative *Helicobacter pylori* strains in the gastric mucosa; an in situ hybridisation study. Journal of clinical pathology, 57(8), 822-828.

CATALANO, M., Matteo, M., Barbolla, R., Jiménez, D., Crespo, O., Leanza, A., Toppor, J. & Antelo, P. (2001). *Helicobacter pylori vacA* genotypes, *cagA* status and *ureA-B* polymorphism in isolates recovered from an Argentine population. Diagnostic microbiology and infectious disease, 41(4), 205-210.

CHING, C., Wong, B., Kwok, E., Ong, L., Covacci, A. & Lam, S. (1996). Prevalence of CagA-bearing *Helicobacter pylori* strains detected by the anti-CagA assay in patients with peptic ulcer disease and in controls. The American journal of gastroenterology, 91(5), 949-53.

CHO, I., Blaser, M., François, F., Mathew, J., Ye, X., Goldberg, J. & Bini, E. (2005). *Helicobacter pylori* and overweight status in the United States: Data from the third national health and nutrition examination survey. American journal of epidemiology, 162(6), 579-584.

CITTELLY, D., Huertas, M., Martínez, J., Oliveros, R., Posso, H., Bravo, M. & Orozco, O. (2002). *Helicobacter pylori* genotypes in non atrophic gastritis, peptic ulcer disease, premalignant lesions and gastric cancer in Colombia. Revista médica de Chile, 130(2), 143-151.

CON, S., Valerín, A., Takeuchi, H., Con-Wong, R., Con-Chin, V., Con-Chin, G., Yagi-Chaves, S., Mena, F., Brenes, F., Echando, G., Kobayashi, M., Monge-Izaguirre, M., Nishioka, M., Morimoto, N., Sugiera, T., Araki, K. (2006). *Helicobacter pylori* CagA status associated with gastric cancer incidence rate variability in Costa Rican regions. Journal of gastroenterology, 41(7), 632-637.

CORREA, P. (1992). Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process – First American cancer society award lecture on cancer epidemiology and prevention. Cancer research, 52(24), 6735-6740.

CORREA, P., Haenszel, W., Cuello, C., Tannenbaum, S. & Archer, M. (1975). A model for gastric cancer epidemiology. Lancet (2), 58-59.

COVER, T., Glupczynski, Y., Lage, A. Burette, A., Tummuru, M., Perez-perez, G. & Blaser, M. (1995). Serologic Detection of Infection with *cagA*+ *Helicobacter pylori* Strains. Journal of clinical microbiology, 33(65), 1496-1500.

CREW, K. & Neugut, A. (2006). Epidemiology of gastric cancer. World journal of gastroenterology, 12(3), 354-362.

DAWSON, B. & Trapp, R. (2002). Bioestadística médica. México: El Manual moderno.

DEBETS-OSENKOPP, Y., Reyes, G., Mulder, J., Stegge, B., Peters, J., Savelkoul, P., Tanca, J., Peña, A. & Vandenbroucke-Grauls, C. (2003). Characteristics of clinical *Helicobacter pylori* strains from Ecuador. Journal of antimicrobial chemotherapy, 51(1), 141-145.

DHARNE, M., Munot, H., Pujari, R., Kakrani, A., Patole, M. & Shouche, Y. (2007). *Helicobacter pylori* *cagA*, *vacA* and *iceA* genotypes in western Indian population of Maharashtra with varied gastroduodenal diseases. Indian journal pathology and microbiology, 50(4), 740-748.

DIXON, M. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Pathology of gastritis and peptic ulceration. *Helicobacter pylori*. Physiology and genetics (Chapter 7). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

DUNDON, W., Marshall, D., O'Moráin, C. & Smyth, J. (2000). Population characteristics of Irish *Helicobacter pylori* isolates: a tRNA-associated locus. Irish journal of medical science, 169(2), 137-140.

EGUCHI, H. & Moss, S. (2002). *Helicobacter pylori*. Molecular pathology, 55(5), 284-285.

ENROTH, H., Kraaz, W., Engstrand, L., Nyrén, O. & Rohan, T. (2000). *Helicobacter pylori* strain types and risk of gastric cancer: a case-control study. Cancer epidemiology, biomarkers and prevention, 9(9), 981-985.

ERZIN, Y., Koksai, V., Altun, S., Dobrucali, A., Aslan, M., Erdamar, S., Dirican, A. & Kocazeybek, B. (2006). Prevalence of *Helicobacter pylori vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, *babA2* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. Helicobacter. 11(6), 574-580.

FANTRY, G., Zheng, Q., Darwin, P., Rosenstein, A. & James, S. (1996). Mixed infection with *cagA*-positive and *cagA*-negative strains of *Helicobacter pylori*. Helicobacter, 1(2), 98-106.

FARINATI, F., Cardin, R., Russo, V., Busatto, G., Franco, M. & Rugge, M. (2006). *Helicobacter pylori* CagA status, mucosal oxidative damage and gastritis phenotype: a potential pathway to cancer? Helicobacter, 8(3), 227-234.

FIGURA, N., Vindigni, C., Covacci, A., Presenti, L., Burrioni, D., Vernillo, R., Banducci, T., Roviello, F., Marrelli, D., Biscontri, M., Kristodhullu, S., Gennari, C. & Vaira, D. (1998). *cagA* positive and negative *Helicobacter pylori* strains are simultaneously present in the stomach of most patients with non-ulcer dyspepsia: relevance to histological damage. Gut, 42(1), 772–778.

GARCÍA, A., Barra, R., Delgado, C., Kawaguchi, F., Trabal, N., Montenegro, S. & González, C. (2006). Genotipificación de aislados clínicos de *Helicobacter pylori* en base a genes asociados a virulencia *cagA*, *vacA* y *babA2*. Primer aislamiento de una cepa *babA2* positiva en pacientes chilenos. Revista médica de Chile, 134(8), 981-988.

GARCÍA-GONZÁLEZ, M., Lanas, A., Quintero, E., Nicolás, D., Parra-Blanco, A., Strunk, M., Benito, R., Angel, M., Santolaria, S., Sopeña, F., Piazuelo, E., Jiménez, P., Pascual, C., Mas, E., Irún, P., Espinel, J., Campo, R., Manzano, M., Geijo, F., Pellisé, M., González-Huix, F., Nieto, M., Espinós, J., Titó, L., Bufanda, L., Zaballa, M. & Spanish Gastroenterological Association AEG. (2007). Gastric cancer susceptibility is not linked to pro-and anti-inflammatory cytokine gene polymorphisms in whites: a Nationwide Multicenter Study in Spain. The American journal of gastroenterology, 102(9), 1878-1892.

GARZA-GONZALEZ, E., Bosques-Padilla, F., Tijerina-Menchaca, R. & Perez-Perez, G. (2006). Characterisation of *Helicobacter pylori* isolates from the north-eastern region of Mexico. Clinical microbiology and infection, 10(1), 41-45.

GATTI, L., de Lábio, R., da Silva, L., Smith, A. & Payão, S. (2006). CagA positive *Helicobacter pylori* in Brazilian children related to chronic gastritis. The Brazilian journal of infection diseases, 10(4), 254-258.

GO, M. & Graham, D. (1996). Presence of the *cagA* gene in the majority of *Helicobacter pylori* strains is independent of whether the individual has duodenal ulcer or asymptomatic gastritis. Helicobacter, 1(2), 107-111.

GODDARD, A. & Loga, R. (2003). Diagnostic methods for *Helicobacter pylori* detection and eradication. British journal of clinical pharmacology, 56(3): 273–283.

GODOY, A., Ribeiro, M., Benvengo, Y., Vitiello, L., Miranda Mde, C., Mendonça, S., Pedrazzoli, J Jr. (2003). Analysis of antimicrobial susceptibility

and virulence factors in *Helicobacter pylori* clinical isolates. BMC gastroenterology, 3(20). Downloaded on 29 April 2008, from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=194586>

GÓMEZ, N., Salvador, A., Vargas, P., Zapatier, J. & Álvarez, J. (2004). Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en la población infantil ecuatoriana. Revista de gastroenterología de Perú, 24(4), 230-233.

GÓMEZ, J., Elizalde, J., Marco, F., Bordas, J., Piqué, J. & Jiménez de Anta, M. (1999). Typification of strains of *Helicobacter pylori* by the detection of the *cagA* gene and subtypes of the *vacA* gene. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 17(4), 171-175.

GRAHAM, D. & Qureshi, W. 2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Markers of infection. *Helicobacter pylori*. Physiology and genetics (Chapter 7). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

HAMLET, A., Thoreson, A., Nilsson, O., Svennerholm, A. & Olbe, L. (1999). Duodenal *Helicobacter pylori* infection differs in *cagA* genotype between asymptomatic subjects and patients with duodenal ulcers. Gastroenterology, 116(2), 259-268.

HUNTER, T. (1995). Protein kinases and phosphatases: the ying and yang of protein phosphorylation and signaling. Cell, 80(4), 225-36.

HARRIS, P., Godoy, A., Arenillas, S., Riera, F., García, D., Einisman, H., Peña, A., Rollán, A., Duarte, I., Guiraldes, E. & Perez-Perez, G. (2003). CagA



antibodies as a marker of virulence in Chilean patients with *Helicobacter pylori* infection. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 37(5), 596-602.

HAVLASOVÁ, J., Bures, J., Rejchrt, S., Voxová, B. & Krejsek J. (1998). *Helicobacter pylori* CagA antigen antibodies. Casopis lékařů českých, 137(13), 404-409.

HELD, M., Engstrand, L., Hansson, L., Bergström, R., Wadström, T. & Nyrén, O. (2004). Is the association between *Helicobacter pylori* and gastric cancer confined to CagA-positive strains? (2004). Helicobacter, 9(3), 271-277.

HOFMAN, V., Moreilhon, C., Brest, P., Lassalle, S., Le Brigand, K., Sicard, D., Raymond, J., Lamarque, D., Hébuterne, X., Mari, B., Barbry, P. & Hofman, P. (2007). Gene expression profiling in human gastric mucosa infected with *Helicobacter pylori*. Modern pathology, 20(9), 974-989.

HUANG, J., Zheng, G., Sumanac, K., Irvine, E. & Hunt, R. (2003). Meta-analysis of the relationship between *cagA* seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology, 125(6), 1636-1644.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS (2006). Anuario de estadísticas vitales, nacimientos y defunciones, año 2006 Extraído el 29 de abril de 2008, de: [http://www.inec.gov.ec/web/guest/ecu\\_est/reg\\_adm/est\\_vit/est\\_nac\\_def](http://www.inec.gov.ec/web/guest/ecu_est/reg_adm/est_vit/est_nac_def)

JAFARZADEH, A., Rezayati, M. & Nemati, M. (2007). Specific serum immunoglobulin G to *H pylori* and CagA in healthy children and adults (south-east of Iran). World journal of gastroenterology, 13(22), 3117-3121.

KIDDA, M., Lastovicab, A., Athertonc, J. & Louwa, J. (1999). Heterogeneity in the *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genes: association with gastroduodenal disease in South Africa? Gut, 45(4), 499-502.

KIM, N. (2005). Epidemiology and transmission route of *Helicobacter pylori* infection. Korean journal gastroenterology, 46(3), 153-8.

KONRÁÐSSON, A., Andersen, L., Oddsson, E., Guðjónsson, H. & Thornjóðleifsson, B. (2003). Prevalence of *Helicobacter pylori* and *cagA* strains in patients with duodenal ulcer in Iceland. Laeknabladid, 89(7/8), 595-597.

KUIPERS, E., Pérez-Pérez, G., Meuwissen, S. & Blazer, M. (1995). *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the *cagA* status. Journal of national cancer institute, 87(23), 1777-1780.

KUSTERS, J., van Vliet, A. & Kuipers, E. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clinical microbiology reviews, 19(3), 449-490.

LAGE, A., Godfroid, E., Fauconnier, A., Burette, A., Butzler, J., Bollen, A. & Glupczynski, Y. (1995). Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. Journal of clinical microbiology, 33(10), 2752-2756.

LAI, C., Kuo, C., Chen, Y., Chao, F., Poon, S., Chang, C. & Wang, W. (2002). High prevalence of *cagA*- and *babA2*-positive *Helicobacter pylori* clinical isolates in Taiwan. Journal of clinical microbiology, 40(10), 3860-3862.

ŁAWNICZAK, M. & Starzyńska, T. (2002). *Helicobacter pylori* CagA(+) infection in gastric cancer patients. Polski Merkurusz Lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego, 13(75),216-20.

LI, C., Pignatelli, B. & Ohshima, H. (2004). Increased oxidative and nitrate stress in human stomach associated with *cagA+* *Helicobacter pylori* infection and inflammation. Digestive diseases and sciences, 46(4), 836-844.

MAAROOS, H., Vorobjova, T., Sipponen, P., Tammur, R., Uibo, R., Wadström, T., Keevallik, R. & Villako, K. (1999). An 18-year follow-up study of chronic gastritis and *Helicobacter pylori* association of CagA positivity with development of atrophy and activity of gastritis. Scandinavian journal of gastroenterology, 34(9), 864-869.

MAEDA, S., Ogura, K., Yoshida, H., Kanai, F., Ikenoue, T., Kato, N., Shiratori, Y. & Omata, M. (1998). Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in *Helicobacter pylori* isolates in Japan. Gut, 42(3), 338-343.

MARSHALL, B. & Warren, J. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet, 1(8390), 1311-1315.

MARTÍNEZ, A., González, C., Kawaguchi, F. Montoya, R., Corvalán, A., Madariaga, J., Roa, J., García, A., Salgado, F., Solar, H. & Palma, M. (2001). *Helicobacter pylori*: *cagA* status and *vacA* genotyping in Chile. Detection of a s2/m1 strain. Revista médica de Chile, 129(10), 1147-1153.

MATTANA, C., Vega, A., Escobar, F., Sabini, L., Zan, S. & Puig de Centorbia, O. (2007). Genotypic, phenotypic, and clinical characteristics of isolates of *Helicobacter pylori* from San Luis, Argentina. Fiola microbiologica (Praha), 52(5), 519-524.

MATTEO, M., Granados, G., Pérez, C., Olmos, M., Sanchez, C. & Catalana, M. (2007). *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island genotype diversity within the gastric niche of a single host. Journal of medical microbiology, 56(5), 664-669.

McCABE, K., Khan, G., Zhang, Y., Mason, E. & McCabe, E. (1995). Amplification of bacterial DNA using highly conserved sequences: automated analysis and potential for molecular triage of sepsis. Pediatrics, 95(2), 165-169

MIEHLKE, S., Kibler, K., Kim, J., Figura, N., Small, S., Graham, D., Go, M. (1996). Allelic variation in the *cagA* gene of *Helicobacter pylori* obtained from Korea compared to the United States. The American journal of gastroenterology, 91(7), 1322-13225.

MITCHELL, H. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Epidemiology of infection. *Helicobacter pylori*. Physiology and genetics (Chapter 1). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

MITCHELL, H., Hazell, S., Li, Y. & Hu, P. (1996). Serological response to specific *Helicobacter pylori* antigens: antibody against CagA antigen is not predictive of gastric cancer in a developing country. The American journal of gastroenterology, 91(9), 1785-1788.

MOBLEY, H. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Urease. *Helicobacter pylori*. Physiology and genetics (Chapter 4). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

MOBLEY, H. Mendz, G. & Hazell, S. (Eds). (2001). *Helicobacter pylori*. Physiology and genetics. Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

MORTON, R., Hebel, R. & Mc Carter, R. (1993). Bioestadística y epidemiología. México: Interamericana Mc Graw Hill.

MOSS, S., Sordillo, E., Abdalla, A., Makarov, V., Hanzely, Z., Perez-Perez, G., Blazer, M. & Holt, P. (2001). Increased gastric epithelial cell apoptosis associated with colonization with *cagA+* *Helicobacter pylori* strains. Cancer research, 61(4), 1406-1411.

MUKHOPADHYAY, A., Kersulyte, D., Jeong, J., Datta, S., Ito, Y., Chowdhury, A., Chowdhury, S., Santra, A., Bhattacharya, S., Azuma, T., Nair, B. & Berg, D. (2000). Distinctiveness of genotypes of *Helicobacter pylori* in Calcutta, India. Journal of Bacteriology, 182(11), 3219-3227.

NATIONAL INSTITUTE OF CANCER (2006). *H. pylori* and Cancer: Fact Sheet. United States of America: Author [Electronic Version]

NILSSON, C., Sillén, A., Eriksson, L., Strand, M., Enroth, H., Normark, S., Falk, P. & Engstrand, L. (2003). Correlation between *cag* pathogenicity island composition and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. Infection and immunity, 71(11), 6573-6581.

NIMRI, L., Matalka, I., Bani, K. & Ibrahim, M. (2006). *Helicobacter pylori* genotypes identified in gastric biopsy specimens from Jordanian patients. BMC gastroenterology, 6(27), 6-27.

NOGUEIRA, C., Figueiredo, C., Carneiro, F., Taveira, A., Barreira, R., Figueira, P., Salgado, C., Belo, L., Peixoto, A., Bravo, J., Bravo, L., Realpe, J., Plaisier, A., Quint, W., Ruiz, B., Correa, P. & van Doorn, L. (2001). *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. The American journal of pathology, 158(2), 647-654.

ODENBREIT, S., Püls, J., Sedlmaier, B., Gerland, E., Fischer, W. & Haas, R. (2000). Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. Science, 287(5457), 1497-1500.

OCCHIALINI, A., Marais, A., Urdaci, M., Sierra, R., Muñoz, N., Covacci, A. & Mégraud, F. (2001). Composition and gene expression of the *cag* pathogenicity island in *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric carcinoma and gastritis patients in Costa Rica. Infection and immunity, 69(3), 1902-1908.

ORSINI, B., Ciancio, G., Surrenti, E., Macrí, G., Biagini, M., Milani, S. & Surrenti, C. (1998). Serologic detection of CagA positive *Helicobacter pylori* infection in a northern Italian population: its association with peptic ulcer disease. Helicobacter, 3(1), 15-20.

OWEN, R., Hurtado, A., Banatvala, N., Abdi, Y., Davies, G., Feldman, R. & Hardie, J. (1994). Conservation of the cytotoxin-associated (*cagA*) gene of *Helicobacter pylori* and investigation of association with vacuolating-cytotoxin

activity and gastroduodenal disease. FEMS immunology and medical microbiology, 9(4), 307-315.

OWEN, R., Peters, T., Varea, R., Teare, E. & Saverymuttu, S. (2001). Molecular epidemiology of *Helicobacter pylori* in England: prevalence of *cag* pathogenicity island markers and *IS605* presence in relation to patient age and severity of gastric disease. FEMS immunology and medical microbiology, 30(1), 65-71.

OWEN, R., Taylor, D., Wang, G. & van Doorn, L. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Heterogeneity and subtyping. *Helicobacter pylori*. Physiology and genetics (Chapter 5). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

PAN, Z., Hulst, R., Feller, M., Xiao S., Tytgat, G., Dankert, J. & Ende, A. (1997). Equally high prevalences of infection with *cagA*-Positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis-associated dyspepsia. Journal of clinical microbiology, 35(6), 1344–1347.

PAPA, A., Danese, S., Sgambato, A., Ardito, R., Zannoni, G., Rinelli, A., Vecchio, F., Gentiloni-Silveri, N., Cittadini, A., Gasbarrini, G. & Gasbarrini, A. Role of *Helicobacter pylori* CagA+ infection in determining oxidative DNA damage in gastric mucosa. Scandinavian journal of gastroenterology, 37(4), 409-413.

PARSONNET, J., Friedman, G. D., Vandersteen, D. P., Chang, Y., Vogelman, H., Orentreich N. & Sibley R.K. (1991). *Helicobacter pylori* infection

and the risk of gastric carcinoma. New England journal of medicine, 325 (16), 1127-1131.

PARSONNET, J., Friedman, G., Orentreich, N. & Vogelmann, H. (1997). Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. Gut, 40(3), 297-301.

PEEK, R. Jr, Moss, S., Tham, K., Pérez-Pérez, G., Wang, S., Miller, G., Atherton, J., Holt, P. & Blaser, M. (1997). *Helicobacter pylori cagA+* strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. Journal of national cancer institute, 89(12), 863-868.

PEEK, R., Miller, G., Tham, K., Pérez-Pérez, G., Cover, T., Atherton, J., Dunn, D. & Blaser, M. (1995). Detection of *Helicobacter pylori* gene expression in human gastric mucosa. Journal of clinical microbiology, 33(1), 28–32.

PEEK, R., Miller, G., Tham, K., Perez-Perez, G., Zhao, X., Atherton, J. & Blazer, M. (1995). Heightened inflammatory response and cytokine expression *in vivo* to *cagA+* *Helicobacter pylori* strains. Laboratory investigation, 73(6), 760-770.

PERCIVAL, L. & Wadström, T. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Basic bacteriology and culture. *Helicobacter pylori. Physiology and genetics* (Chapter 2). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

PERRONE, M., Muñoz, L., Camorlinga, M., Correnti, M., Cavazza, M., Lecuna, V. & Torres, J. (2005). Importance of IgG anti-CagA antibodies of



*Helicobacter pylori* in Venezuelan patients with gastric diseases. Investigación clínica, 46(4), 357-367.

PILOTTO, A., RASSU, M., BOZZOLA, L., LEANDRO, G., FRANCESCHI, M., FURLAN, F., MELI, S., SCAGNELLI, M., DI MARIO, F., & VALERIO, G. (1998). Cytotoxin - associated gene A-positive *Helicobacter pylori* infection in the elderly. Association with gastric atrophy and intestinal metaplasia. Journal of clinic gastroenterology, 26(1), 18-22.

PLUMMER, M., VAN DOORN, L., FRANCESCHI, S., KLETER, B., CANZIAN, F., VIVAS, J., LOPEZ, G., COLIN, D., MUÑOZ, N. & KATO, I. (2007). *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated genotype and gastric precancerous lesions. Journal of the national cancer institute, 99(17), 1328-1334.

PRICE, A. (1991). The Sydney System: Histological division. Journal of gastroenterology and hepatology, 6(3), 209-222

ROBBINS (Ed). (2000). Patología estructural y funcional. México: Mc Graw Hill.

ROKKAS, T., LADAS, S., LIATSO, C., PETRIDOU, E., PAPA THEODOROU, G., THEOCHARIS, S., KARAMEERIS, A. & RAPTIS, S. (1999). Relationship of *Helicobacter pylori* CagA status to gastric cell proliferation and apoptosis. Digestive diseases and sciences, 44(3), 487-93.

ROTA, C., PEREIRA-LIMA, J., BLAYA, C. & BEYER, N. (2001). Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3' region of *cagA* gene in

isolates from individuals with or without peptic ulcer. Journal of clinical microbiology, 39(2), 606-612.

ROURKE, J. & Bode, G. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Morphology and ultrastructure. Helicobacter pylori. Physiology and genetics (Chapter 2). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

RUDI, J., Kolb, C., Maiwald, M., Kuck, D., Sieg, A., Galle, P. & Stremmel, W. (1998). Diversity of *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. Journal of clinical microbiology, 36(4), 944-948.

RUGGE, M., Busatto, G., Cassaro, M., Shiao, Y., Russo, V., Leandro, G., Avellini, C., Fabiano, A., Sidoni, A. & Covacci, A. (1999). Patients younger than 40 years with gastric carcinoma. Cancer, 85(12), 2506-2511.

SAMBROOK, J., Frisch, E. & Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor: New York.

SARIBASAK, H., Salih, B., Yamaoka, Y. & Sander, E. (2004). Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. Journal of clinical microbiology, 42(4), 1648-1651.

SARUÇ, M., Demir, M., Küçükmetin, N., Kandiloglu, A., Akarca, U. & Yüceyar, H. (2002). Histological and clinical predictive value of determination of tissue CagA status by PCR in *Helicobacter pylori* infected patients; results of the large population based study in western Turkey. Hepatogastroenterology, 49(45), 878-881.

SASAZUKI, S., Inoue, M., Iwasaki, M., Otani, T., Yamamoto, S., Ikeda, S., Hanaoka, T., Tsugane, S. & Japan Public Health Center Study Group. (2006). Effect of *Helicobacter pylori* infection combined with CagA and pepsinogen status on gastric cancer development among Japanese men and women: a nested case-control study. Cancer epidemiology, biomarkers and prevention, 15(7), 1341-1347.

SEGAL, E. Falkow , S. & Tompkins, L.. (1996). *Helicobacter pylori* attachment to gastric cells induces cytoskeletal rearrangements and tyrosine phosphorylation of host cell proteins. Proceedings of the national academy of sciences of United States of America, 93(3), 1259-1264.

SEMPERTEGUI, F., Diaz, M., Mejia, R., Rodriguez-Mora OG., Renteria, E., Guarderas, C., Estrella, B., Recalde, R., Hamer, DH. & Reeves, PG. (2007). Low concentrations of zinc in gastric mucosa are associated with increased severity of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. Helicobacter, 12(1), 43-8.

SERIN, E., Yilmaz, U., Künefecı, G., Özer, B., Gümürdülü, Y., Güçlü, M., Kayaselçuk, F. & Boyacıođlu, S. (2003). Serum positive *cagA* in patients with non-ulcer dyspepsia and peptic ulcer disease from two centers in different regions of Turkey. World journal of gastroenterology, 9(4), 833-835.

SHEU, S., Sheu, B., Yang, H., Li, C., Chu, T. & Wu, J. (2002). Presence of *iceA1* but not *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagF*, *cagN*, *cagT*, or *orf13* genes of *Helicobacter pylori* is associated with more severe gastric inflammation in Taiwanese. Journal of the Formosan Medical Association, 101(1), 18-23.

SHIMOYAMA, T., Fukuda, S., Tanaka, M., Mikami, T., Munakata, A. & Crabtree, J. (1998). CagA seropositivity associated with development of gastric cancer in a Japanese population. Journal of clinical pathology, 51(3), 225-228.

SICINSCHI, L., Correa, P., Peek Jr, R., Camargo, M., Delgado, A., Piazuelo, M., Romero-Gallo, J., Bravo, L. & Schneider, B. (2008). *Helicobacter pylori* genotyping and sequencing using paraffin-embedded biopsies from residents of Colombian areas with contrasting gastric cancer risks. Helicobacter, 13(2), 135-145.

SISLEMA, F. (2008). Optimización de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el diagnóstico molecular de *Helicobacter pylori* en muestras de mucosa gástrica de pacientes ecuatorianos, y comparación con el método diagnóstico de histopatología. Tesis, ESPE. Pichincha - Ecuador.

SMITH, S. Oyedeji, K., Arigbabu, A., Cantet, F., Megraud, F., Ojo, O., Uwaifo, A., Otegbayo, J., Ola, S., Coker, A. (2004). Comparison of three PCR methods for detection of *Helicobacter pylori* DNA and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. World journal of gastroenterology: WJG, 10(13), 1958 – 1960.

SOKIC-MILUTINOVIC, A., Wex, T., Todorovic, V., Milosavljevic, T. & Malfertheiner, P. (2004). Anti-CagA and anti-VacA antibodies in *Helicobacter pylori*-infected patients with and without peptic ulcer disease in Serbia and Montenegro. Scandinavian journal of gastroenterology, 39(3), 222-226.

SÖKÜCÜ, S., Ozden, A., Süoğlu, O., Elkabes, B., Demir, F., Cevikbaş, U., Gökçe, S. & Saner, G. (2006). CagA positivity and its association with

gastroduodenal disease in Turkish children undergoing endoscopic investigation. Journal of gastroenterology, 41(6), 533-539.

SOLNICK, J. & Vandamme, P. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Taxonomy of the *Helicobacter* genus. Helicobacter pylori. Physiology and genetics (Chapter 2). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

SOZZI, M., Valentini, M., Figura, N., De Paoli, P., Tedeschi, R., Gloghini, A., Serraino, D., Poletti, M. & Carbone, A. (1998). Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in *Helicobacter pylori* infection: the role of CagA status. The American journal of gastroenterology, 93(3), 375-379.

STEIN, M., Rappuoli, R. & Covacci, A. (2000). Tyrosine phosphorylation of the *Helicobacter pylori* CagA antigen after *cag*-driven host cell translocation. PNAS, 97(3), 1263-1268.

STEIN, M., Rappuoli, R. & Covacci, A. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). The *cag* pathogenicity island. Helicobacter pylori. Physiology and genetics (Chapter 5). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

STRACHAN, T. & Read, A. (1999). Human molecular genetics 2. United States of America: BIOS Scientific Publishers. [Electronic version]

SUERBAUM, S. & Achtman, M. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Population genetics. Helicobacter pylori. Physiology and genetics (Chapter 5). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

SURZYCKI, S. (1999). Basic techniques in molecular biology. Springer. Lab Manual.

TORRES, J., Camorlinga-Ponce, M., Perez-Perez, G., Muñoz, L. & Muñoz, O. (2002). Specific serum immunoglobulin G response to urease and CagA antigens of *Helicobacter pylori* in infected children and adults in a country with high prevalence of infection. Clinical and diagnostic laboratory immunology, 9(1), 97-100.

TUMMURU, M., Cover, T. & Blaserl, M. (1993). Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. Infection and immunity, 61(5), 1799-1809.

VOROBJOVA, T., Grünberg, H., Oona, M., Maaros, H., Nilsson, I., Wadström, T., Covacci, A. & Uibo R. (2000). Seropositivity to *Helicobacter pylori* and CagA protein in schoolchildren of different ages living in urban and rural areas in southern Estonia. European journal of gastroenterology & hepatology, 12(1), 97-101.

WANG, J. Blanchard, T. & Ernst, P. (2001). H. Mobley, G. Mendz & S. Hazell (Eds). Host inflammatory response to infection. Helicobacter pylori. Physiology and genetics (Chapter 7). Washington (DC): ASM Press. [Electronic version]

WARBURTON, V., Everett, S., Mapstone, N., Axon, A., Hawkey, P., Dixon, M. (1998). Clinical and histological associations of *cagA* and *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* gastritis. Journal of clinical pathology, 51(1), 55-61

WEISS, J., Mecca, J., da Silva, E. & Gassner, D. (1994). Comparison of PCR and other diagnostic techniques for detection of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. Journal of clinical microbiology, 32(7), 1663-1668.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2006). Cancer. Fact sheet N°297.  
United States of America: Author [Electronic Version]

WU, A., Crabtree, J., Bernstein, L., Hawtin, P., Cockburn, M., Tseng, C. & Forman, D. (2003). Role of *Helicobacter pylori* CagA+ strains and risk of adenocarcinoma of the stomach and esophagus. International journal of cancer, 103(6), 815-821.

WU, C., Chou, P., Hu, C., Liu, Z., Lin, C., Tseng, Y. & Lin, N. (2005). Clinical Relevance of the *vacA*, *iceA*, *cagA*, and *flaA* genes of *Helicobacter pylori* strains isolated in Eastern Taiwan. Journal of clinical microbiology, 43(6), 2913-2915.

ZAMBON, C., Navaglia, F., Basso, D., Rugge, M. & Plebani, M. (2003). *Helicobacter pylori* *babA2*, *cagA*, and *s1 vacA* genes work synergistically in causing intestinal metaplasia. Journal of clinical pathology, 56(4), 287-291.

ZAMUDIO, M., Huguet, J., Suárez, V., Morón, C., Vargas, G., Soriano, C., Frisancho, O. & Bussalleu, A. (2002). Estandarización de la reacción en cadena de la polimerasa para la tipificación de *Helicobacter pylori*. Revista peruana de medicina experimental y salud pública, 19 (4), 202-205.

ZHENGGA, P., Huaa, J., Yeohb, K. & Hoa, B. (2000). Association of peptic ulcer with increased expression of Lewis antigens but not *cagA*, *iceA*, and *vacA* in *Helicobacter pylori* isolates in an Asian population. Gut, 47(1),18-22.

ZHOU, J., Zhang, J., Xu, C. & He, L. (2004). *cagA* genotype and variants in Chinese *Helicobacter pylori* strains and relationship to gastroduodenal diseases. Journal of medical microbiology, 53(3), 231-235.

ZSIKLA, V., Hailemariam, S., Baumann, M., Mund, M., Schaub, N., Meier, R. & Cathomas, G. (2006). Increased rate of *Helicobacter pylori* infection detected by PCR in biopsies with chronic gastritis. The American journal of surgical pathology, 30(2), 242-248.

## **CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES**

Dada la alta prevalencia de la infección por *H. pylori* en nuestro país, es necesario dar continuidad al tipo de investigaciones como la presentada, estudios que servirán para lograr establecer los genotipos de *H. pylori* que se presentan con mayor frecuencia entre los ecuatorianos infectados por la bacteria, y así relacionarlos potencialmente con el desarrollo de específicas patologías.

La mayoría de investigaciones referentes a la genotipificación de *H. pylori* se han efectuado en poblaciones de pacientes adultos, sin embargo, es importante que futuros trabajos analicen también a la población infantil, especialmente cuando los estudios epidemiológicos sugieren que la infección ocurre preferentemente en la infancia, lo cual es aplicable a nuestra población a consecuencia de la alta prevalencia que se ha reportado para la bacteria en los niños ecuatorianos.

Es importante que el diagnóstico molecular por PCR empiece a ser reconocido ampliamente como un método diagnóstico para las infecciones bacterianas, como lo es la producida por *H. pylori*; debido a que, esta técnica indica una alta sensibilidad y especificidad, y además sus resultados son disponibles en un corto lapso de tiempo, en comparación con los métodos diagnósticos tradicionales.

En cuanto al trabajo de laboratorio, es importante continuar destinando dos áreas independientes, PRE – PCR y POST – PCR, para el proceso de amplificación de las muestras. Lo cual como se refleja en el presente estudio, evita la contaminación durante el procesamiento de las muestras.



## RESUMEN

La infección por *Helicobacter pylori* esta relacionada con un amplio espectro de patologías gástricas, desde gastritis leves hasta gastritis atróficas y con metaplasia intestinal, y en algunos individuos conduce al desarrollo del cáncer gástrico. Existen cepas de *H. pylori* que poseen el gen *cagA*, un factor de virulencia que ha sido asociado con cambios histológicos en la mucosa gástrica. El objetivo de este estudio fue determinar si la infección por cepas de *H. pylori cagA+* esta relacionada con la presencia patologías gástricas severas. Se incluyó en el estudio un grupo de 184 pacientes, que se sometieron a un examen de endoscopia gastroduodenal, en tres hospitales de la provincia de Pichincha. Se evaluó la presencia del genotipo *cagA* mediante PCR a partir del DNA de las biopsias gástricas que resultaron ser positivas para *H. pylori* por PCR. Los resultados indicaron la presencia de *H. pylori* en 139/184 (75.5%) pacientes, de los cuales 41 (29.5%) presentaron el genotipo *cagA+*. La prevalencia del genotipo *cagA+* se asoció significativamente ( $P = 0.02$ ) con el género de los pacientes infectados, fue más alta en los varones (39.4%) que en las mujeres (20.5%). Mediante un análisis de regresión logística se encontró que el genotipo *cagA+* esta asociado significativamente ( $P = 0.03$ ) con la metaplasia intestinal (OR = 3.52; CI, 95% = 1.17 a 10.59). Estos resultados comprobaron la hipótesis que la infección por cepas de *H. pylori cagA+* está relacionada con la presencia de patologías gástricas severas y que la infección por cepas *cagA+* incrementa el riesgo para la metaplasia intestinal.

## ABSTRACT

*Helicobacter pylori* infection is associated with diversity of gastric pathologies and leads in some individual to the development of gastric cancer. Early studies have suggested that the presence of *cagA* gene (*cytotoxin-associated gene A*) is a virulence factor for *H. pylori* associated with histological changes in gastric mucosa. The aim of this study was to evaluate relation between *H. pylori cagA+* infection and severity of gastric pathologies. One hundred eighty four patients referred for gastrointestinal endoscopy of three hospitals of Pichincha province were studied. The *cagA* status was determined by PCR from gastric biopsies DNA of *H. pylori* positive patients by PCR. Subjects infected with *H. pylori* were 139/184 (75.5%) and between *H. pylori* positive patients 41 (29.5%) had *cagA+* genotype. The prevalence of *cagA+* genotype was significantly ( $P = 0.02$ ) higher in males (39.4%) compared to females (20.5%). Logistic regression demonstrated that *cagA+* genotype was significantly ( $P = 0.03$ ) associated with intestinal metaplasia (OR = 3.52; CI, 95% = 1.17 to 10.59). These findings confirm the hypothesis that the infection with *H. pylori cagA+* is associated with severity of gastric pathologies and *cagA+* strains increased risk for intestinal metaplasia.

# ANEXOS

## ANEXO A Aprobación del Comité de Bioética de la Universidad Central del Ecuador



UNIVERSIDAD CENTRAL  
DEL ECUADOR

### Approval/Acceptance of Protocol Form <sup>8</sup>

<b>Protocol Number:</b>	S/N
<b>Protocol Title:</b>	"Relación entre infección por cepas de <i>Helicobacter pylori</i> cagA+, producción de Interleuquina-8 y fenotipo de la gastritis en pacientes del Hospital Eugenio Espejo de la ciudad de Quito"
<b>Principal Investigator (s):</b>	Virginia VALLEJO ROJAS
<b>Protocol Date:</b>	Marzo 26 de 2007

TYPE OF APPROVAL / ACCEPTANCE		
This Approval/Acceptance will be valid for one year from the date(s) entered above unless otherwise noted on this document		
INITIAL	Version date	Approved date
Date Protocol Approved with qualification by COBI	Marzo 26 de 2007	02-04-2007
<b>CONTINUING</b> Date Protocol Reaccepted by COBI		
<b>PROTOCOL AMENDMENT(S)</b> Date Amendment(s) Approved with qualification by COBI		
<b>INFORMED CONSENT DOCUMENT</b> Date Approved/ Accepted	Marzo 26 de 2007	02-04-2007
<b>ADVERTISEMENTS / CRF / INVESTIGATOR'S BROCHURE</b> Date Approved/ Accepted		
<p><b>COMMENTS:</b> El estudio cumple con la observancia de las Normas de Buena Práctica Clínica. El COBI recomienda informar cualquier modificación al protocolo de estudio.</p> <p><i>CODIGO DEL EVALUADOR: CBM / COBI-001</i></p>		
<p><b>APPROVAL / ACCEPTANCE</b></p> <p>By Committee</p> <p>02-04-2006</p>		
<p>UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR CENTRO DE BIOMEDICINA COMITÉ DE BIOÉTICA <b>APROBADO</b> <i>[Signature]</i> SECRETARÍA FECHA: 02/04/2007</p>		

<sup>8</sup> Form No. **CBM/COBI (001-07)** based in ICH Harmonised Tripartite Guideline for Good Clinical Practice. FEDERALWIDE ASSURANCE FWA00002482 IEC IORG0001932 IRB00002438. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR / CAMPUS DE MEDICINA / CENTRO DE BIOMEDICINA / COMITÉ DE BIOÉTICA. Telefax: (593 2) 3228455/54 PBX 2528810 / 146, 150, 197. E-mail: [biomedicina@cbm.uce.edu.ec](mailto:biomedicina@cbm.uce.edu.ec). Web: <http://www.uce.edu.ec/cbm> Dirección postal: Sodiro N-14121 e Iquique. POB 17-116120 QUITO-ECUADOR.

## ANEXO B Hoja de consentimiento Informado

### HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Número:

#### ESTUDIO:

**Relación entre la infección por cepas de *Helicobacter pylori* cagA+, producción de Interleuquina-8 y fenotipo de la gastritis en pacientes del Hospital Eugenio Espejo de la ciudad de Quito.**

#### Descripción

Usted ha sido invitado a participar en un estudio, que trata de determinar la relación entre una sustancia elaborada naturalmente por su cuerpo (IL 8) y la presencia de un microorganismo que causa la gastritis. Este microorganismo es la bacteria llamada *Helicobacter pylori*. Esta investigación es realizada por el Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador.

Usted fue seleccionado como candidato para participar en este estudio, porque se considera que tiene gastritis. Se espera que en este estudio participen aproximadamente 150 personas como voluntarias.

Si acepta participar en esta investigación, se le solicitará que se realice un examen para poder visualizar la superficie interna de su estómago. Este examen consiste en introducir por su boca un tubo flexible, que llegará a su estómago. Este tubo contiene una pequeña cámara que permitirá ver al médico su estómago. Durante este examen el médico tomará pequeñísimas muestras de su estómago (biopsias). Luego estas muestras serán analizadas por el médico-patólogo, para ver el estado de su estómago y encontrar a la bacteria. Además, se utilizará estas muestras para otros estudios de laboratorio.

En el caso que el médico encuentre la bacteria en su estómago, le indicará un tratamiento para eliminar a la bacteria, que consiste en medicamentos que Usted deberá tomar por el tiempo que le indique el médico.

Este examen no presenta riesgos, es muy seguro. En algunas personas puede causar náusea cuando se introduce el tubo. Sin embargo, el médico le administrará un medicamento para evitar estas molestias.

Su historia clínica y los datos de sus exámenes serán guardados por el médico clínico investigador de manera confidencial. El médico le informará solo a Usted los resultados y le indicará el tratamiento apropiado.

#### Firma del consentimiento

Si ha leído este documento y ha decidido participar voluntariamente, por favor incluya su firma.

Si tiene alguna pregunta o desea recibir más información sobre esta investigación, por favor comuníquese con el Dr. Oswaldo Rodríguez Mora (08-4971-491, 2241-220)

**Su firma en este documento significa que ha decidido participar después de haber leído y discutido la información presentada en esta hoja de consentimiento.**

\_\_\_\_\_  
**Nombre del participante**

\_\_\_\_\_  
**Firma**  
(O huella digital)

\_\_\_\_\_  
Nombre del testigo  
(Familiar o acompañante)

\_\_\_\_\_  
Firma

He discutido el contenido de esta hoja de consentimiento con el arriba firmante. Le he explicado todos los riesgos y beneficios del estudio.

\_\_\_\_\_  
Nombre del investigador o  
persona designada

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Fecha de versión: abril de 2007

## ANEXO C Formulario para pacientes

### FORMULARIO PARA PACIENTES

Número:

Fecha:       2 0 0 7  
(día) (mes) (año)

#### DATOS DEL PACIENTE

Nombre:	<input type="text"/>	Apellidos:	<input type="text"/>
Edad:	<input type="text"/>	Sexo:	Masculino <input type="checkbox"/> Femenino <input type="checkbox"/>
Nacionalidad:	Ecuatoriana <input type="checkbox"/>	Otra (especifique):	<input type="text"/>
	Ciudad:	<input type="text"/>	
	Provincia:	<input type="text"/>	
A recibido algún tratamiento contra <i>H. pylori</i> :	No <input type="checkbox"/>	Si <input type="checkbox"/>	Observación: <input type="text"/>

#### DATOS DE LA MUESTRA

Tipo de Biopsia / Número:	N° Historia Clínica:	<input type="text"/>
Antro	<input type="text"/>	
Cuerpo	<input type="text"/>	
Médico que realizó la endoscopia:	<input type="text"/>	
Observaciones:	<input type="text"/>	

#### DATOS DE PATOLOGÍA

Negativo para <i>H. pylori</i>	<input type="checkbox"/>	Fecha:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> 2 0 0 7 (día) (mes) (año)
Positivo para <i>H. pylori</i>	<input type="checkbox"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> de 3		
Mucosa Normal	<input type="checkbox"/>		
Gastritis crónica:		Activa	<input type="text"/>
Media	<input type="text"/>	Atrofia	<input type="text"/>
Moderada	<input type="text"/>	Metaplasia Intestinal	<input type="text"/>
Severa	<input type="text"/>	Displasia	<input type="text"/>
Médico - Patólogo:	<input type="text"/>		
Observaciones:	<input type="text"/>		

## **ANEXO D** Solución de PBS

### *Componentes*

8 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O

2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O

0.14 M NaCl

Agua destilada

HCL, ajustar el pH a 7.4

### *Protocolo*

Añadir la cantidad apropiada de los componentes a un 80% del volumen total, ajustar el pH a 7.4 y aforar hasta el volumen final. Esterilizar por autoclavado (Surzycki, 1999).

## **ANEXO E** Buffer TE

### *Componentes*

10 mM Tris HCl, pH 7.5 – 8.0

1mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH 8.5

Agua destilada

### *Protocolo*

Añadir la cantidad apropiada de la solución stock 1 M Tris HCl y stock 0.5 M Na<sub>2</sub>EDTA al agua. Esterilizar por autoclavado y almacenar a 4°C (Surzycki, 1999).

## **ANEXO F** Buffer de carga

### *Componentes*

0.25% (p/v) Bromofenol

0.25% (p/v) Xilene-cianol

30% (p/v) Glicerol

Agua grado biología molecular

### *Protocolo*

Añadir la cantidad apropiada de bromofenol, xilene-cianol y glicerol al agua. Almacenar las alícuotas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , la solución en uso a temperatura ambiente (Sambrook Frisch & Maniatis, 1989).

## **ANEXO G** Buffer TAE 1X

Diluir a partir del stock buffer TAE 50x:

### *Componentes*

2 M Tris base

1 M Ácido acético

50 mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$

Agua destilada

### *Protocolo*

Pesar 242 g de Tris base y añadir 800 ml de agua destilada. Añadir 57.1 ml de ácido acético y 100 ml de la solución stock 0.5 M  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  (pH 8.5). Disolver agitando continuamente por una hora, aforar el volumen hasta 1L. No autoclavar. Almacenar a temperatura ambiente (Surzycki, 1999). Para obtener un buffer TAE 1X, diluir 20 ml del buffer TAE 50X en 980 ml de agua destilada.



**ANEXO H** Cuantificación del DNA de las muestras de biopsias gástricas y de la cepa control

<b>CUANTIFICACIÓN DEL DNA</b>						
<b>Número</b>	<b>Código</b>	<b>LECTURA</b>		<b>Concentración del DNA (ugDNA/ml)</b>	<b>260 nm / 280 nm (radio)</b>	<b>Pureza del DNA</b>
		<b>260 nm</b>	<b>280 nm</b>			
1	1	0.0120	0.0080	360.60	1.5	Adecuada
2	2	0.0029	0.0024	87.15	1.2	Regular
3	3	0.0020	0.0010	60.10	2.0	Adecuada
4	5	0.0034	0.0022	102.17	1.5	Adecuada
5	6	0.0022	0.0015	66.11	1.5	Adecuada
6	7	0.0031	0.0022	93.16	1.4	Regular
7	8	0.0028	0.0022	84.14	1.3	Regular
8	9	0.0025	0.0015	75.13	1.7	Adecuada
9	11	0.0046	0.0037	138.23	1.2	Regular
10	12	0.0036	0.0032	108.18	1.1	Regular
11	13	0.0029	0.0024	87.15	1.2	Regular
12	14	0.0079	0.0053	237.40	1.5	Adecuada
13	16	0.0048	0.0029	144.24	1.7	Adecuada
14	18	0.0068	0.0037	204.34	1.8	Adecuada
15	19	0.0015	0.0011	45.08	1.4	Regular
16	20	0.0047	0.0033	141.24	1.4	Regular
17	21	0.0027	0.0015	81.14	1.8	Adecuada
18	22	0.0015	0.0007	45.08	2.1	Adecuada
19	23	0.0011	0.0006	33.06	1.8	Adecuada
20	24	0.0014	0.0007	42.07	2.0	Adecuada
21	29	0.0021	0.0016	63.11	1.3	Regular
22	30	0.0042	0.0023	126.21	1.8	Adecuada
23	31	0.0041	0.0023	123.21	1.8	Adecuada
24	32	0.0069	0.0043	207.35	1.6	Adecuada
25	33	0.0023	0.0013	69.12	1.8	Adecuada
26	34	0.0051	0.0026	153.26	2.0	Adecuada
27	35	0.0071	0.0049	213.36	1.4	Adecuada
28	36	0.0028	0.0015	84.14	1.9	Adecuada
29	37	0.0043	0.0030	129.22	1.4	Regular
30	38	0.0077	0.0050	231.39	1.5	Adecuada
31	39	0.0050	0.0046	150.25	1.1	Regular
32	40	0.0015	0.0008	45.08	1.9	Adecuada
33	41	0.0040	0.0025	120.20	1.6	Adecuada
34	42	0.0010	0.0006	30.05	1.7	Adecuada
35	43	0.0054	0.0028	162.27	1.9	Adecuada
36	44	0.0024	0.0016	72.12	1.5	Adecuada
37	45	0.0021	0.0015	63.11	1.4	Regular

38	46	0.0013	0.0005	39.07	2.6	Adecuada
39	49	0.0120	0.0085	360.60	1.4	Regular
40	50	0.0071	0.0050	213.36	1.4	Regular
41	51	0.0193	0.0140	579.97	1.4	Regular
42	52	0.0060	0.0042	180.30	1.4	Regular
43	53	0.0033	0.0018	99.17	1.8	Adecuada
44	54	0.0052	0.0038	156.26	1.4	Regular
45	55	0.0103	0.0067	309.52	1.5	Adecuada
46	56	0.0100	0.0049	300.50	2.0	Adecuada
47	57	0.0071	0.0036	213.36	2.0	Adecuada
48	58	0.0034	0.0015	102.17	2.3	Adecuada
49	59	0.0110	0.0086	330.55	1.3	Regular
50	60	0.0218	0.0160	655.09	1.4	Regular
51	61	0.0097	0.0072	291.49	1.3	Regular
52	62	0.0106	0.0069	318.53	1.5	Adecuada
53	63	0.0060	0.0037	180.30	1.6	Adecuada
54	64	0.0092	0.0055	276.46	1.7	Adecuada
55	65	0.0050	0.0027	150.25	1.9	Adecuada
56	66	0.0069	0.0052	207.35	1.3	Regular
57	67	0.0069	0.0038	207.35	1.8	Adecuada
58	68	0.0081	0.0053	243.41	1.5	Adecuada
59	69	0.0075	0.0046	225.38	1.6	Adecuada
60	70	0.0097	0.0053	291.49	1.8	Adecuada
61	71	0.0106	0.0072	318.53	1.5	Adecuada
62	72	0.0088	0.0059	264.44	1.5	Adecuada
63	73	0.0084	0.0053	252.42	1.6	Adecuada
64	74	0.0122	0.0088	366.61	1.4	Regular
65	75	0.0087	0.0057	261.44	1.5	Adecuada
66	76	0.0080	0.0050	240.40	1.6	Adecuada
67	77	0.0064	0.0039	192.32	1.6	Adecuada
68	78	0.0056	0.0030	168.28	1.9	Adecuada
69	79	0.0066	0.0037	198.33	1.8	Adecuada
70	80	0.0063	0.0038	189.32	1.7	Adecuada
71	81	0.0118	0.0083	354.59	1.4	Regular
72	82	0.0044	0.0019	132.22	2.3	Adecuada
73	83	0.0059	0.0032	177.30	1.8	Adecuada
74	84	0.0065	0.0037	195.33	1.8	Adecuada
75	85	0.0058	0.0031	174.29	1.9	Adecuada
76	86	0.0048	0.0021	144.24	2.3	Adecuada
77	87	0.0069	0.0038	207.35	1.8	Adecuada
78	88	0.0042	0.0023	126.21	1.8	Adecuada
79	89	0.0034	0.0013	102.17	2.6	Adecuada
80	90	0.0050	0.0021	150.25	2.4	Adecuada
81	91	0.0057	0.0032	171.29	1.8	Adecuada
82	92	0.0041	0.0024	123.21	1.7	Adecuada
83	93	0.0044	0.0024	132.22	1.8	Adecuada
84	94	0.0042	0.0019	126.21	2.2	Adecuada
85	95	0.0078	0.0059	234.39	1.3	Regular
86	96	0.0058	0.0048	174.29	1.2	Regular
87	97	0.0082	0.0067	246.41	1.2	Regular

88	98	0.0058	0.0047	174.29	1.2	Regular
89	99	0.0066	0.0055	198.33	1.2	Regular
90	100	0.0074	0.0057	222.37	1.3	Regular
91	102	0.0056	0.0044	168.28	1.3	Regular
92	104	0.0092	0.0064	276.46	1.4	Regular
93	105	0.0054	0.0042	162.27	1.3	Regular
94	106	0.0079	0.0056	237.40	1.4	Regular
95	107	0.0097	0.0071	291.49	1.4	Regular
96	108	0.0062	0.0046	186.31	1.3	Regular
97	109	0.0053	0.0042	159.27	1.3	Regular
98	110	0.0061	0.0047	183.31	1.3	Regular
99	111	0.0048	0.0025	144.24	1.9	Adecuada
100	112	0.0070	0.0045	210.35	1.6	Adecuada
101	113	0.0045	0.0024	135.23	1.9	Adecuada
102	114	0.0066	0.0043	198.33	1.5	Adecuada
103	115	0.0073	0.0052	219.37	1.4	Regular
104	116	0.0041	0.0021	123.21	2.0	Adecuada
105	117	0.0042	0.0021	126.21	2.0	Adecuada
106	119	0.0037	0.0019	111.19	1.9	Adecuada
107	120	0.0041	0.0022	123.21	1.9	Adecuada
108	121	0.0083	0.0060	249.42	1.4	Regular
109	122	0.0048	0.0025	144.24	1.9	Adecuada
110	123	0.0039	0.0018	117.20	2.2	Adecuada
111	125	0.0047	0.0027	141.24	1.7	Adecuada
112	126	0.0058	0.0032	174.29	1.8	Adecuada
113	127	0.0056	0.0029	168.28	1.9	Adecuada
114	128	0.0038	0.0018	114.19	2.1	Adecuada
115	129	0.0047	0.0026	141.24	1.8	Adecuada
116	154	0.0026	0.0023	78.13	1.1	Regular
117	155	0.0014	0.0009	42.07	1.6	Adecuada
118	157	0.0035	0.0031	105.18	1.1	Regular
119	158	0.0048	0.0034	144.24	1.4	Regular
120	159	0.0047	0.0039	141.24	1.2	Regular
121	160	0.0114	0.0095	342.57	1.2	Regular
122	161	0.0089	0.0069	267.45	1.3	Regular
123	162	0.0093	0.0081	279.47	1.1	Regular
124	164	0.0109	0.0064	327.55	1.7	Adecuada
125	165	0.0075	0.0039	225.38	1.9	Adecuada
126	166	0.0092	0.0052	276.46	1.8	Adecuada
127	167	0.0056	0.0027	168.28	2.1	Adecuada
128	168	0.0054	0.0029	162.27	1.9	Adecuada
129	169	0.0151	0.0110	453.76	1.4	Regular
130	170	0.0151	0.0096	453.76	1.6	Adecuada
131	171	0.0083	0.0052	249.42	1.6	Adecuada
132	172	0.0042	0.0021	126.21	2.0	Adecuada
133	173	0.0046	0.0023	138.23	2.0	Adecuada
134	174	0.0072	0.0037	216.36	1.9	Adecuada
135	175	0.0039	0.0019	117.20	2.1	Adecuada
136	176	0.0202	0.0121	607.01	1.7	Adecuada
137	177	0.0046	0.0022	138.23	2.1	Adecuada

138	178	0.0047	0.0023	141.24	2.0	Adecuada
139	179	0.0081	0.0054	243.41	1.5	Adecuada
140	180	0.0046	0.0026	138.23	1.8	Adecuada
141	181	0.0074	0.0040	222.37	1.9	Adecuada
142	182	0.0108	0.0064	324.54	1.7	Adecuada
143	183	0.0073	0.0048	219.37	1.5	Adecuada
144	184	0.0074	0.0050	222.37	1.5	Adecuada
145	185	0.0072	0.0046	216.36	1.6	Adecuada
146	186	0.0124	0.0073	372.62	1.7	Adecuada
147	187	0.0061	0.0035	183.31	1.7	Adecuada
148	188	0.0053	0.0030	159.27	1.8	Adecuada
149	189	0.0223	0.0129	670.12	1.7	Adecuada
150	190	0.0132	0.0073	396.66	1.8	Adecuada
151	191	0.0043	0.0014	129.22	3.1	Adecuada
152	192	0.0112	0.0068	336.56	1.6	Adecuada
153	193	0.0036	0.0013	108.18	2.8	Adecuada
154	194	0.0063	0.0032	189.32	2.0	Adecuada
155	195	0.0070	0.0066	210.35	1.1	Regular
156	196	0.0027	0.0024	81.14	1.1	Regular
157	197	0.0033	0.0023	99.17	1.4	Regular
158	198	0.0105	0.0060	315.53	1.8	Adecuada
159	199	0.0034	0.0023	102.17	1.5	Adecuada
160	201	0.0030	0.0020	90.15	1.5	Adecuada
161	202	0.0080	0.0051	240.40	1.6	Adecuada
162	203	0.0075	0.0048	225.38	1.6	Adecuada
163	204	0.0046	0.0038	138.23	1.2	Regular
164	205	0.0044	0.0032	132.22	1.4	Regular
165	206	0.0034	0.0023	102.17	1.5	Adecuada
166	207	0.0024	0.0018	72.12	1.3	Regular
167	208	0.0025	0.0023	75.13	1.1	Regular
168	209	0.0090	0.0058	270.45	1.6	Adecuada
169	210	0.0082	0.0056	246.41	1.5	Adecuada
170	211	0.0092	0.0063	276.46	1.5	Adecuada
171	212	0.0057	0.0043	171.29	1.3	Regular
172	213	0.0063	0.0037	189.32	1.7	Adecuada
173	214	0.0013	0.0008	39.07	1.6	Adecuada
174	215	0.0041	0.0023	123.21	1.8	Adecuada
175	217	0.0048	0.0031	144.24	1.5	Adecuada
176	218	0.0065	0.0036	195.33	1.8	Adecuada
177	219	0.0078	0.0065	234.39	1.2	Regular
178	220	0.0043	0.0030	129.22	1.4	Regular
179	221	0.0056	0.0040	168.28	1.4	Regular
180	222	0.0036	0.0024	108.18	1.5	Adecuada
181	223	0.0109	0.0087	327.55	1.3	Regular
182	224	0.0031	0.0021	93.16	1.5	Adecuada
183	225	0.0042	0.0024	126.21	1.8	Adecuada
184	226	0.0069	0.0046	207.35	1.5	Adecuada
Cepa Control		0.0043	0.0025	129.22	1.7	Adecuada

**ANEXO I** Datos de los individuos participantes: código, hospital, género, edad, diagnóstico histopatológico, presencia de *H. pylori* por histología y PCR, y presencia del gen *cagA* en las biopsias positivas para *H. pylori*.

DATOS DE LOS INDIVIDUOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO								
Número	Código del Paciente	Hospital <sup>A</sup>	Género <sup>B</sup>	Edad	Diagnóstico Histopatológico <sup>C</sup>	Presencia de <i>H. pylori</i>		
						Histología <sup>D</sup>	PCR <i>H. pylori</i> <sup>E</sup>	PCR <i>H. pylori cagA</i> <sup>F</sup>
1	1	HEE	1	55	1	1	1	0
2	2	HEE	1	49	2	0	0	-
3	3	HEE	0	20	1	1	1	0
4	5	HEE	1	49	2	1	1	0
5	6	HEE	1	56	2	1	1	1
6	7	HEE	1	57	3	1	1	1
7	8	HEE	1	67	1	0	0	-
8	9	HEE	1	30	1	1	1	0
9	11	HEE	1	58	2	1	1	0
10	12	HEE	1	46	2	1	1	0
11	13	HEE	1	74	1	1	1	0
12	14	HEE	0	34	1	1	1	1
13	16	HEE	1	38	2	1	1	1
14	18	HEE	0	32	2	1	1	1
15	19	HEE	1	79	3	0	0	-
16	20	HEE	1	52	2	0	0	-
17	21 <sup>G</sup>	HEE	1	78	2	0	1	0
18	22	HEE	1	66	2	0	0	-
19	23	HEE	1	45	2	1	1	0
20	24	HEE	1	53	2	1	1	0
21	29	HEE	1	53	1	1	1	0
22	30	HEE	1	32	1	1	1	0
23	31	HEE	0	49	2	1	1	0
24	32 <sup>G</sup>	HEE	0	16	1	0	1	0
25	33	HEE	0	44	3	1	1	0
26	34	HEE	1	78	3	0	0	-
27	35	HEE	1	27	1	0	0	-
28	36	HEE	1	40	3	1	1	0
29	37	HEE	1	86	1	0	0	-
30	38	HEE	1	70	1	1	1	1
31	39	HEE	0	49	2	1	1	1
32	40	HEE	0	44	2	0	0	-
33	41	HEE	0	81	2	1	1	0

34	42	HEE	0	50	1	1	1	1
35	43	HEE	1	40	2	1	1	0
36	44	HEE	1	65	1	1	1	0
37	45	HEE	1	78	3	0	0	-
38	46	HEE	1	51	2	0	0	-
39	49	HEE	1	66	3	1	1	0
40	50	HEE	1	30	1	1	1	0
41	51	HEE	1	76	5	0	0	-
42	52 <sup>G</sup>	HEE	0	23	1	0	1	0
43	53	HEE	1	23	1	1	1	0
44	54	HEE	1	64	1	1	1	0
45	55	HEE	1	49	2	1	1	0
46	56	HEE	1	41	1	1	1	0
47	57	HEE	0	74	3	1	1	0
48	58	HEE	1	45	3	1	1	0
49	59	HEE	1	46	1	1	1	0
50	60	HEE	0	44	2	1	1	0
51	61	HEE	1	27	1	0	0	-
52	62	HEE	0	39	2	1	1	0
53	63	HEE	0	43	2	1	1	0
54	64	HEE	0	40	2	1	1	0
55	65	HEE	1	47	1	0	0	-
56	66	HPVM	0	64	1	0	0	-
57	67	HPVM	1	62	1	1	1	0
58	68	HPVM	1	62	1	0	0	-
59	69 <sup>G</sup>	HPVM	1	44	1	0	1	0
60	70	HPVM	0	52	1	1	1	0
61	71 <sup>G</sup>	HPVM	1	43	1	0	1	0
62	72	HPVM	0	53	1	1	1	0
63	73	HPVM	0	47	1	1	1	0
64	74 <sup>G</sup>	HPVM	0	72	1	0	1	0
65	75 <sup>G</sup>	HPVM	0	42	1	0	1	1
66	76 <sup>G</sup>	HPVM	1	34	1	0	1	0
67	77	HPVM	1	24	1	1	1	0
68	78	HPVM	0	21	1	1	1	0
69	79 <sup>G</sup>	HPVM	0	70	3	0	1	0
70	80 <sup>G</sup>	HPVM	1	54	1	0	1	0
71	81	HPVM	1	37	1	1	1	1
72	82 <sup>G</sup>	HPVM	0	67	3	0	1	0
73	83	HPVM	0	23	1	1	1	1
74	84	HPVM	1	49	1	0	0	-
75	85 <sup>G</sup>	HPVM	0	60	3	0	1	1
76	86	HPVM	0	45	1	1	1	1
77	87 <sup>G</sup>	HPVM	1	34	1	0	1	0
78	88	HPVM	1	22	1	0	0	-
79	89 <sup>G</sup>	HPVM	1	57	3	0	1	1
80	90	HPVM	0	56	3	1	1	1
81	91	HPVM	0	47	1	1	1	1
82	92	HEE	0	43	1	1	1	1
83	93	HEE	1	52	2	1	1	0
84	94 <sup>G</sup>	HEE	1	73	3	0	1	1
85	95	HEE	1	53	2	1	1	0

86	96	HEE	1	51	3	1	1	0
87	97	HEE	1	58	3	1	1	0
88	98	HEE	0	21	1	1	1	1
89	99	HEE	0	82	1	1	1	1
90	100	HEE	0	41	2	1	1	1
91	102	HEE	1	51	2	1	1	0
92	104	HEE	1	37	2	1	1	1
93	105	HEE	1	54	3	1	1	0
94	106	HEE	1	44	3	1	1	1
95	107 <sup>G</sup>	HEE	0	50	2	0	1	0
96	108	HEE	0	55	2	1	1	1
97	109	HEE	1	45	1	1	1	0
98	110	HEE	0	15	1	1	1	0
99	111 <sup>G</sup>	HEE	1	50	2	0	1	0
100	112	HEE	1	61	1	0	0	-
101	113	HEE	1	54	2	0	0	-
102	114	HEE	1	69	2	0	0	-
103	115	HEE	1	62	2	1	1	0
104	116 <sup>G</sup>	HEE	0	25	2	0	1	1
105	117	HEE	1	28	1	0	0	-
106	119	HEE	0	35	3	1	1	0
107	120	HEE	0	32	1	1	1	1
108	121 <sup>G</sup>	HEE	0	54	2	0	1	1
109	122	HEE	0	37	1	1	1	0
110	123	HEE	0	67	3	1	1	0
111	125	HEE	1	42	2	1	1	0
112	126	HEE	0	23	1	1	1	0
113	127	HEE	1	32	1	1	1	0
114	128	HEE	1	43	1	1	1	0
115	129	HEE	0	52	1	0	0	-
116	154	HEE	0	26	2	1	1	0
117	155	HEE	0	15	1	1	1	1
118	157	HEE	1	56	2	1	1	0
119	158	HEE	1	59	3	1	1	1
120	159	HEE	0	44	2	1	1	1
121	160	HEE	0	43	1	1	1	1
122	161	HEE	1	43	2	1	1	0
123	162	HEE	1	71	3	0	0	-
124	164	HVQ	0	25	2	0	0	-
125	165	HVQ	0	49	1	0	0	-
126	166 <sup>G</sup>	HVQ	1	74	3	0	1	0
127	167	HVQ	0	63	3	0	0	-
128	168	HVQ	0	50	2	0	0	-
129	169	HVQ	0	49	1	0	0	-
130	170 <sup>G</sup>	HVQ	0	40	2	0	1	0
131	171	HVQ	0	33	2	1	1	0
132	172	HVQ	1	46	1	0	0	-
133	173	HVQ	1	30	1	0	0	-
134	174	HVQ	0	30	1	0	0	-
135	175	HVQ	0	46	1	1	1	0
136	176	HVQ	0	42	1	0	0	-
137	177	HVQ	0	45	2	1	1	0

138	178	HVQ	1	59	1	1	1	0
139	179	HVQ	1	54	1	1	1	0
140	180	HVQ	1	39	1	1	1	0
141	181	HVQ	1	26	1	1	1	0
142	182	HVQ	1	31	2	1	1	0
143	183	HVQ	1	63	3	0	0	-
144	184	HVQ	1	38	1	1	1	0
145	185	HVQ	1	42	2	1	1	1
146	186	HVQ	1	41	1	0	0	-
147	187	HVQ	0	52	1	1	1	1
148	188	HVQ	0	40	1	0	0	-
149	189	HVQ	0	27	1	0	0	-
150	190	HVQ	1	51	3	1	1	1
151	191	HVQ	0	33	1	0	0	-
152	192	HVQ	0	46	2	1	1	0
153	193	HVQ	0	63	3	1	1	1
154	194	HVQ	1	35	1	1	1	0
155	195	HVQ	1	36	2	1	1	0
156	196	HVQ	0	42	2	1	1	0
157	197	HVQ	0	36	1	0	0	-
158	198	HVQ	1	34	1	1	1	0
159	199	HVQ	0	33	1	1	1	0
160	201	HVQ	0	42	1	1	1	0
161	202	HVQ	0	41	2	1	1	1
162	203	HVQ	1	36	1	1	1	0
163	204	HVQ	0	34	2	1	1	0
164	205	HVQ	1	21	1	0	0	-
165	206	HVQ	1	37	1	1	1	0
166	207	HVQ	1	72	1	0	0	-
167	208 <sup>G</sup>	HVQ	1	55	1	0	1	0
168	209	HVQ	0	33	1	1	1	0
169	210	HVQ	0	35	1	1	1	0
170	211	HVQ	0	33	1	1	1	0
171	212	HVQ	1	83	5	0	0	-
172	213	HVQ	0	34	2	1	1	0
173	214	HVQ	1	43	3	1	1	1
174	215	HVQ	0	52	2	1	1	0
175	217	HVQ	1	69	1	0	0	-
176	218	HVQ	0	27	1	1	1	0
177	219	HVQ	1	58	2	1	1	0
178	220	HVQ	0	37	3	1	1	1
179	221	HVQ	1	68	1	0	0	-
180	222	HVQ	1	41	2	1	1	1
181	223	HVQ	0	47	2	0	0	-
182	224 <sup>G</sup>	HVQ	1	35	1	0	1	0
183	225	HVQ	0	30	2	1	1	1
184	226	HVQ	1	46	1	1	1	1

A = Hospital donde se realizó el examen de endoscopia gastroduodenal. HEE: Hospital "Eugenio Espejo", HPVM: Hospital "Pedro Vicente Maldonado", HVQ: Hospital "Vozandes-Quito".



B = Género del individuo. 1: femenino, 2: masculino.

C = Informe del diagnóstico histopatológico. 1: gastritis crónica no atrófica, 2: gastritis crónica atrófica, 3: metaplasia intestinal, 4: displasia, 5: cáncer gástrico.

D = Presencia de *H. pylori* por evidencia histológica. 1: presente, 0: ausente.

E = Presencia de *H. pylori* por diagnóstico molecular, PCR para *H. pylori*. 1: presente, 0: ausente.

F = PCR para el genotipo *cagA* en las muestras positivas para *H. pylori*. 1: positivo, 0: negativo.

G = Individuo con infección por *H. pylori* indicada por el diagnóstico molecular (PCR) y no evidenciada por el diagnóstico histológico.