

11215

# Universidad Nacional Autónoma de México



Instituto Mexicano del Seguro Social  
Centro Médico Nacional Siglo XXI  
Hospital de Especialidades  
Servicio de Gastroenterología

11  
2ej.

## “Frecuencia de Colonización de Helicobacter Pylori en Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica en Protocolo de Trasplante Renal”

**T E S I S**  
Que para Obtener el Título de  
**GASTROENTEROLOGO**  
P r e s e n t a  
*Dr. Francisco Martín Huerta Iga*



**IMSS**

México, D. F.

Febrero de 1998

11215

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**

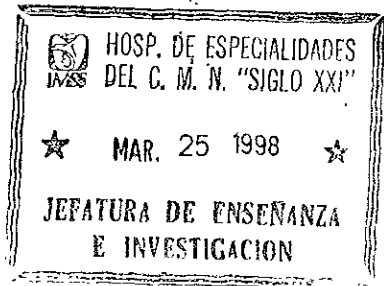


**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'W' followed by a long horizontal stroke that tapers to the right.

---

DR. NEILS WACHER RODARTE  
JEFE DE ENSEÑANZA  
H.E. C.M.N. sXXI



---

DRA. MARGARITA DEHESA VIOLANTE  
JEFA DEL SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA  
H.E. C.M.N. sXXI

ASESORA DE TESIS

## **DOY GRACIAS....**

A **Dios...** Por permitirme la vida en salud.

A **Tatis y María Fernanda...** Por su amor y los momentos felices. Por ser la *energía* de todo este tiempo.

A **Mis Padres y a Gaby...** Por el regalo de la vida, su apoyo y su amistad.

A la **Dra. Margarita Dehesa...** Por su gran calidad humana. Por su ejemplo.

A **Mis Maestros...** Por toda su enseñanza, por su paciencia.

Al **Dr. Isibasi, a Martha, a Jimmy, a todos mis Compañeros...** Por su amistad y ayuda.

A todos ustedes...**Que Dios los Bendiga**

**DEDICO** esta Tesis con todo mi amor a la mujer que ha hecho posibles los sueños más anhelados de mi vida...

Tener **Amor** profundo y sincero...

ser **Padre**...

y poder terminar mi **Carrera**.

## INDICE

Antecedentes históricos	1
Microbiología	3
Epidemiología	10
Patogenia	12
Métodos de diagnóstico	20
Helicobacter pylori y gastritis crónica activa	26
Helicobacter pylori y úlcera duodenal	31
Helicobacter pylori y cáncer gástrico	36
Tratamiento de la infección por Helicobacter pylori	38
Helicobacter pylori e insuficiencia renal crónica	43
Planteamiento del problema	45
Objetivos	47
Hipótesis	47
Material, pacientes y métodos	48
Procedimientos	51
Análisis estadístico	52
Consideraciones éticas	53
Recursos para el estudio	53
Cronograma de actividades	54
Resultados	55
Conclusiones	56
Bibliografía	57

## ANTECEDENTES HISTORICOS.

Los primeros reportes conocidos acerca de la presencia de bacterias en el estómago de mamíferos se remonta al año de 1893, en que Bizzozero (1) describió la presencia de microorganismos espirales en el estómago de algunos perros. En 1896, Salomon describió la presencia de microorganismos similares en las ratas (2).

A principios de este siglo se describió por primera vez la presencia de organismos similares en personas con carcinoma gástrico ulcerado, hallazgo confirmado posteriormente señalando además su ausencia en personas sanas. En los siguientes 30 años se realizaron algunos estudios que reportaron la presencia de estos microorganismos en los estómagos de pacientes con úlceras pépticas benignas. Fue hasta 1938 en que Doenges (3) reportó una prevalencia de organismos espirales en el estómago humano del 43%, sin embargo no estableció relación con alguna enfermedad gástrica en especial. No faltaron investigadores que sugirieron que el hallazgo de tales microorganismos representaba sólo la contaminación del material de biopsia; hipótesis que recibió gran apoyo con el estudio histológico de 1000 sujetos realizado por Palmer en 1954 (4).

No fue sino hasta 1975 en que el estudio de las bacterias gástricas retomó su interés gracias al trabajo de Colin-Jones (5) que reportó la presencia de bacterias en la parte más profunda de la capa de moco de la mucosa del estómago de los pacientes

con úlceras gástricas. Además, fue el primero en establecer una relación entre la presencia de tales microorganismos y la disminución de la resistencia de la mucosa gástrica que, a su vez, predisponía a la ulceración. Los esfuerzos por cultivar a esta bacteria fueron frustrantes en su inicio ya que sólo se lograba cultivar *Pseudomona aeruginosa*. Sin embargo, revisando el contenido del trabajo en forma retrospectiva, se describe la forma espiral de la bacteria, una morfología no asociada a *P.aeruginosa*, lo que permite suponer que la bacteria espiral descrita fue *Helicobacter pylori* y la *Pseudomona* representó sólo contaminación del cultivo.

Es 1983 el año en que definitivamente se logró el aislamiento y cultivo de un organismo del estómago humano parecido al *Campylobacter* y que recibió inicialmente el nombre de *Campylobacter pyloridis*. Los investigadores que lograron esta hazaña fueron Warren y Marshall (6), añadiendo además estudios en relación a la fisiopatología de la enfermedad ulcerosa y a la sintomatología gastroduodenal en relación a la presencia de la bacteria.

Más tarde, el nombre de *Campylobacter pyloridis* fue cambiado al de *Campylobacter pylori*, para finalmente establecerse en *Helicobacter pylori* en el año de 1989 (7). Nominación que conserva hasta la fecha.



## MICROBIOLOGIA.

En base a la clasificación taxonómica propuesta por el científico Carlos Linneo y siguiendo sus lineamientos, el estudio del microorganismo espiral encontrado en el estómago humano logró establecer un nuevo género denominado "*Helicobacter*", término propuesto en Octubre de 1989 por Goodwin, Armstrong y Chilvers (7). Inicialmente, fueron asignadas a este género dos especies: *Helicobacter pylori*, el patógeno gástrico humano y *Helicobacter mustelae*, el organismo encontrado en los hurones. Desde entonces se han encontrado nuevas especies, sumando aproximadamente 10 para 1992 (8). Algunas de estas especies son organismos totalmente nuevos y otros, que formaban parte del género *Campylobacter*, han sido nuevamente clasificados, tales como el *Helicobacter cinaedi* y el *Helicobacter fenelliae*.

## MORFOLOGIA.

El *Helicobacter pylori* es un organismo espiral, unipolar, multiflagelado, con extremos lisos redondeados y con dimensiones que van de 0.5 a 1.0  $\mu\text{m}$  de ancho por 2.5 a 4.0  $\mu\text{m}$  de largo. Su aspecto cambia de acuerdo al sitio en donde se observe, siendo curvo o ligeramente espiral si se le encuentra en la mucosa gástrica, o presentar formas cocoides si se observa en cultivos viejos. Se infiere que la aparición de esta formas, con la desaparición de las formas curvas o espirales, representa un estado de

latencia de la bacteria que le permite sobrevivir en un medio adverso. Las formas cocoides también aparecen después de la exposición a oxígeno.

La formación de estos cocos ocurre cuando los extremos del microorganismo se acercan el uno al otro, lo que permite que su membrana externa se torne esférica dejando reconocer dos tipos principales: uno pequeño con citoplasma electro-denso y membranas intactas, resistente a las agresiones físicas y químicas durante 30 días y que puede ser nuevamente devuelto a su forma espiral vegetante mediante el cultivo adecuado (9); el otro, más grande, con citoplasma menos denso y espacio periplásmico grande, se considera más bien una forma degenerativa encontrada en los cultivos viejos. Además, el *Helicobacter pylori* cuenta con una pared celular cubierta con sub-unidades en forma de anillo de 12 a 15nm de diámetro y una capa de glicocálix de hasta 40nm de espesor, así como 4 a 6 flagelos unidos a un polo, de 2.5  $\mu$ m de longitud y 30nm de espesor terminando en un bulbo membranoso extensión de la cubierta flagelar (10,11).

## ASPECTOS GENETICOS.

Los estudios iniciales del genoma del *Helicobacter pylori* reportaron tamaños que variaron de 1.60 a 1.71 megabases, construyendo un mapa a partir de una cepa y encontrando dos copias de los genes 16S y 23S del RNA ribosomal (12). Los genes responsables de la síntesis de la ureasa se encuentran localizados en una región 4.2

kilobases del cromosoma. Aproximadamente el 40% de las cepas de *Helicobacter pylori* poseen plásmidos, sin embargo no se han asociado a algún fenotipo. Los plásmidos se pierden rápidamente en subcultivos de las cepas.

La mayoría de los plásmidos son pequeños, 1.8 a 22.0 Kilobases. Algunas de las cepas pueden tener 2 o más plásmidos y su presencia no se relaciona con la resistencia a los antibióticos o al ser ureasa negativos.

## ASPECTOS BIOQUIMICOS.

Es conocido que los microorganismos pueden diferenciarse entre sí por el contenido de diversas sustancias, siendo de gran utilidad la determinación de los ácidos grasos particulares así como de las menaquinonas o quinonas respiratorias (importantes marcadores quimiotaxonómicos). En el *Helicobacter pylori* los ácidos grasos mayores son el ácido tetradecanoico (14:0) y el ácido graso ciclopropano de 19 carbonos (19:0 cyc), encontrando una cantidad muy pequeña de ácido hexadecanoico (16:0) y la presencia única y característica del ácido 3-hidroxiocetadecanoico (3-OH-18:0). Respecto a las menaquinonas, el *Helicobacter pylori* carece de la menaquinona-6, encontrada en el género *Campilobacter* en el 20-50%. Por último, con respecto al lípido A, el *Helicobacter pylori* posee 3-OH-16:0 y 3-OH-18:0 en contraste con el *Campilobacter jejuni* que no los posee (13).

## FISIOLOGIA.

El *Helicobacter pylori* es microaerófilo obligado, encontrando su mejor crecimiento en una atmósfera que contenga oxígeno al 5%, bióxido de carbono al 7%, hidrógeno al 2% y nitrógeno al 80% (14). El *Helicobacter* no utiliza los carbohidratos para obtener su energía, es capaz de utilizar los ácidos orgánicos y los aminoácidos mediante el ciclo de Krebs para obtenerla (10). En realidad, los estudios del metabolismo en este organismo han sido pocos.

En lo que respecta al aparato enzimático del *Helicobacter pylori* encontramos una gran cantidad de ureasa muy activa. Su peso molecular es de 600,000 y su constante de Michaelis es de 0.48 mmol/L para la urea. Tiene un punto isoeléctrico de 5.93 y es activa en pH que vaya de 4.0 a 10.0 siendo más óptimo el pH de 8.0. Está compuesta de dos sub-unidades con pesos moleculares de 66,000 y 31,000 (15).

Otra enzima importante del *Helicobacter pylori* es la catalasa, un tetrámero con una subunidad de 50,000 Da y un punto isoeléctrico de 9.0 a 9.3, siendo activa en un amplio rango de pH. El *Helicobacter* posee además una proteasa que digiere el moco humano y fosfolipasa A2 (10). Las Hemaglutininas tienen gran significado ya que representan la forma mediante la cual el *Helicobacter pylori* se adhiere al estómago humano. El *Helicobacter pylori* se une específicamente a un receptor glicerolípido que ha sido identificado como una forma de fosfatidiletanolamina.

Las cepas que poseen hemaglutinina soluble se adhieren en forma más firme a las células HEp-2, mientras que las cepas sin esta hemaglutinina no se adhieren tan fuertemente (16).

Las proteínas de superficie y los lipopolisacáridos del *Helicobacter pylori* activan monocitos y macrófagos. Por ejemplo, extractos de lipopolisacáridos inducen la expresión del antígeno de superficie tipo HLA-DR de los monocitos y a los receptores de interleucina-2.

#### **OBTENCION DE ORGANISMOS.**

La mejor forma de obtener muestras de *Helicobacter pylori* es a través de biopsias tomadas en una endoscopia digestiva alta. Por la distribución en "parches" del *Helicobacter pylori* en el estómago se necesitan tomar por lo menos dos biopsias de antro y dos biopsias de cuerpo, cuidando de no utilizar agentes que pueden ser tóxicos para el organismo, como benzocaína, simeticona, cimetidina y el glutaraldehído en las pinzas de biopsia. El microorganismo rápidamente puede morir a la temperatura ambiente y aunque se han reportado casos en que permanece viable en solución salina, se recomienda utilizar caldo tioglicolato, caldo nutritivo, caldo para *Brucella* y medio de transporte de Stuart colocándolos inmediatamente en hielo y a temperatura de 4 grados Centígrados, con conservación de los especímenes hasta por 5 horas (10).

En el laboratorio, una parte de la biopsia es cortada, macerada y colocada en un portaobjetos para ser teñida. Generalmente la tinción de Gram es poco adecuada dada su baja sensibilidad. En preparaciones de cortes histológicos, son alternativas adecuadas la tinción de Giemsa, el naranja acridina y la carbolfuchina. La utilización de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales *no ha sido muy sensible*, sin embargo, la inmunofluorescencia indirecta ha demostrado sensibilidad de 95% y especificidad de 93% cuando se compara con cultivo e histología (tinción de Warthin Starry) (17).

El éxito del cultivo depende del cuidado que se haya tenido al tomar la biopsia y ser transportada al laboratorio, así como de la preparación de la muestra, sugiriéndose molerla en mortero *más que cortarla* con hojas de bisturí estériles. Se debe recordar que el microorganismo pierde su viabilidad rápidamente a la temperatura ambiente, aproximadamente 45 minutos, por lo que se recomienda utilizar los medios de transporte y temperatura adecuados así como la inmediata siembra de la muestra (10).

Se han estudiado varios medios de cultivo, sin embargo se recomienda la utilización de BHI agar al 2% suplementado con sangre de oveja o caballo desfibrinada al 7% y suplementado con Vancomicina (3-6 mg/L), Anfotericina B (2-6mg/L) y polienrequecimiento al 1% (factores de la coagulación V y X). Los cultivos se deben *incubar a 37.0 grados Centígrados* durante 7 días en un medio microaerofílico (O<sub>2</sub> = 5%, CO<sub>2</sub> = 10% y N<sub>2</sub> = 85%), el cual puede cambiarse a las 24 Hrs., lo que mejora el

crecimiento. Las revisiones se realizan cada 48 Hrs. Se recomienda cultivar una cepa de referencia en la siembra inicial. Las colonias de *H. pylori* miden de 1 a 2 mm de diámetro, son translúcidas y poco hemolíticas.

El *Helicobacter pylori* puede ser liofilizado secando suspensiones del mismo directamente del estado líquido en algodón absorbente. Se puede utilizar caldo o agua con peptonas al 1% más 25% de glicerol a temperaturas de - 70.0 grados Centígrados, o en forma alternativa, caldo de *Brucella* suplementado con suero bovino fetal al 10% durante 24 Hrs., agregándose glicerol al 10% antes de congelarlo a la temperatura señalada (18).

## EPIDEMIOLOGIA.

### HISTORIA NATURAL.

En base a los conocimientos actuales, la infección por *Helicobacter pylori* puede considerarse de adquisición en la infancia, con duración de casi toda la vida y que sólo en algunas personas provocará la aparición de patología a nivel de estómago o duodeno. Este concepto único de "infección lenta" fue propuesto por Blaser (19) y supone características únicas y distintas a las observadas en otras infecciones crónicas como aquellas provocadas por las *Mycobacteria* o la *Chlamydia tracomatis*.

El factor de riesgo mejor reconocido y más asociado a la infección por *Helicobacter pylori* lo representa el estado socio-económico. En los países en vías de desarrollo casi todos los niños están infectados a la edad de 10 años, al igual que los niños de familias de los estratos más pobres en países desarrollados (20). De hecho, en algunos países, se puede establecer un paralelismo entre la disminución en la infección por *Helicobacter pylori* y el desarrollo económico, tal y como ocurrió en Japón, en donde las personas nacidas antes de 1950 tuvieron una prevalencia que se establece en 80 a 90% comparada con aquellas personas nacidas entre 1970 y 1980 en quienes la prevalencia se establece en el 20% (21). Fenómenos semejantes se han observado en San Marino, Francia, Estados Unidos y otros países occidentales (22).



Informes recientes señalan que la falta de agua intubada, el hacinamiento y el compartir cama, son factores de riesgo asociados a la adquisición de *Helicobacter pylori* (23). Cuando se comparan estos datos con los fenómenos que se presentan en los adultos se observa que existe un índice muy bajo de infecciones nuevas, lo que supone a su vez el bajo riesgo para la adquisición de la infección en países desarrollados por parte de las personas en edad adulta.

Estudios recientes sugieren que quizá los linfocitos de algunos sujetos posean memoria del contacto previo con *Helicobacter pylori*, aún cuando no se pueda demostrar la presencia de anticuerpos en el plasma (24). Se han reportado curvas de seroprevalencia en niños donde el pico máximo se encuentra a los 3 o 4 años de edad, con una disminución marcada entre la edad de 5 a 10 años seguida de un nuevo aumento, sugiriendo la posible erradicación espontánea en los niños. Aunque se ha estudiado, no se ha podido establecer la presencia de un fondo genético que predisponga a la adquisición de la infección (20).

Actualmente se reconoce la serología como el método más sencillo y utilizado para determinar la infección por *Helicobacter pylori* en estudios epidemiológicos. Existen equipos comerciales para la detección de la IgG, sin embargo para estudios en niños aún no se encuentran disponibles la IgA y la IgM en equipos comerciales. El estándar de oro para establecer la infección por *Helicobacter pylori* está representado por el cultivo, método poco disponible en algunos lugares.

## PATOGENIA.

Las diferentes teorías que se han desarrollado para intentar explicar la forma en que la infección por *Helicobacter pylori* ocasiona el daño en el epitelio pueden agruparse en dos conceptos principales:

Goodwin (25), propone que el *Helicobacter* provoca daño en la mucosa gastroduodenal alterando los mecanismos de defensa de la misma. Este enunciado se conoce como la hipótesis del "techo que gotea" (leaking-roof).

Por otra parte, Levi (26) propone que el *Helicobacter pylori* aumenta la liberación antral de gastrina, que a su vez, provoca aumento en la acidez gástrica favoreciendo el daño a la mucosa. Este enunciado se conoce como la hipótesis "ligada a la gastrina" (gastrin-link).

En la práctica, no se ha podido dilucidar cuál de estas hipótesis sea la verdadera o la más cercana a ello. Hay que reconocer que el éxito del *Helicobacter* como patógeno depende de dos circunstancias: Factores de virulencia y mecanismos patogénicos. Los factores de virulencia son aquellos que le permiten al *Helicobacter* sobrevivir en el medio adverso de la cavidad gástrica, tales como su forma espiral y motilidad, sus enzimas y proteínas de adaptación y su propiedad de adhesividad a las células de la mucosa gástrica y moco.

Los mecanismos patógenicos son aquellos que en forma directa provocan lesión en la mucosa gástrica, como toxinas y mediadores de la inflamación, e incluso factores que favorecen la actividad del ácido o la pepsina. Se comentan a continuación.

### **MOVILIDAD Y MORFOLOGIA.**

El *Helicobacter pylori* posee una gran movilidad en soluciones viscosas, lo que le permite penetrar rápidamente a través del ácido y la capa de moco en la mucosa. Esta penetración se favorece por su forma espiral y a la presencia de flagelos. Estudios recientes han demostrado que las cepas de *Helicobacter* que poseen mayor movilidad también producen una citotoxina vacuolizante; sin embargo, la virulencia correlaciona mejor con la movilidad que con la producción de citotoxina (27).

### **PROTEINAS Y ENZIMAS DE ADAPTACION.**

#### 1 ) UREASA.

La ureasa del *Helicobacter pylori* es una enzima hexamérica con peso de 550 kd y subunidades de 62 y 30 kd. Posee la constante de Michaelis más baja de las ureasas conocidas, lo que le permite ser completamente funcional en concentraciones bajas de urea en el estómago. Esta enzima hidroliza la urea de la mucosa gástrica en amonio y

bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) elevando el pH intragástrico transformando el medio en uno más favorable para su supervivencia. La ureasa también provee de nitrógeno al *Helicobacter pylori* (15,27).

## 2) CATALASA.

La catalasa del *Helicobacter pylori* es un tetrámero con peso molecular de 200 kd con subunidades de 50 kd y con un grupo prostético de hierro-porfirina. La catalasa es una enzima que protege a la bacteria de los efectos tóxicos de los metabolitos del oxígeno (28).

## 3) INHIBIDOR PROTEICO DE LA SECRECION ACIDA DEL ESTOMAGO.

Es una proteína con masa molecular de 12 a 14 kd con potencial inhibitorio para la secrecion ácida sin causar daño directo a las células epiteliales. Esto puede explicar la hipoclorhidria transitoria que se observa en los pacientes recientemente infectados por *Helicobacter pylori* (27).

## ADHESIVIDAD.

El *Helicobacter pylori* se une a la membrana de las células epiteliales del estómago formando verdaderos puentes, similares a los que se observan con la *E.coli* enterotoxigénica. En los sitios de unión ocurre lesión de los elementos del citoesqueleto

y esfacelo de microvellosidades. La adhesión implica interacción entre las adhesinas de la bacteria y los receptores en la mucosa. Las adhesinas identificadas son una hemaglutinina fibrilar, una adhesina de 31 kd, una proteína que co-purifica con ureasa, una proteína de 19.6 kd y una molécula antigénicamente similar a la exoenzima S de la *Pseudomona aeruginosa* (29).

### **RECEPTORES CELULARES EPITELIALES.**

Se han identificado receptores para *Helicobacter pylori*, algunos con alta afinidad como la fosfatidiletanolamina, identificada previamente en células de la mucosa gástrica y eritrocitos. Otros receptores de alta afinidad comprenden asialo-gangliósido GM1 y asialo-gangliósido GM2. Los receptores de afinidad intermedia incluyen al asialo-gangliósido GM3 y paraglobósido. El *Helicobacter pylori* también se adhiere a la colágena tipo IV, laminina y moco humano (30,31).

### **TOXINAS Y ENZIMAS POTENCIALMENTE TOXICAS.**

#### **1 ) CITOTOXINAS.**

Aproximadamente el 50 o 60% de los filtrados de *Helicobacter pylori* poseen una toxina que provoca vacuolización no letal. Se han aislado proteínas con pesos

moleculares de 128 y 83 kd, no se ha establecido cual de ellas o si las dos juntas condicionan la vacuolización. Se conoce que la proteína de 128 kd es más frecuente en pacientes que también tienen úlcera duodenal (32).

## 2) UREASA.

Se ha observado una relación directa entre la intensidad de la inflamación gástrica y la concentración de amonio en el jugo gástrico. El amonio altera la integridad iónica del moco gástrico permitiendo la retrodifusión de iones hidrógeno y provocando daño en la mucosa (15).

## 3) MUCINASA.

Existe una mucinasa con actividad a pH de 7.0 y temperatura de 37.0°C que provoca depleción de la capa de moco del epitelio gástrico. La depleción del moco puede alterar la integridad de la mucosa favoreciendo la retrodifusión de iones hidrógeno y la penetración del *Helicobacter pylori* (33).

## 4) LIPOPOLISACARIDO.

El lipopolisacarido del *Helicobacter pylori* inhibe la unión del receptor de laminina incorporado a liposoma con las superficies cubiertas de laminina. Esto condiciona la pérdida de la integridad de la mucosa ya que la laminina es una matriz extracelular necesaria para mantener esta integridad (27).

## 5) LIPASA Y FOSFOLIPASA A.

Los lípidos y fosfolípidos son importantes para mantener la viscosidad del moco, evitar la retrodifusión de iones hidrógeno y mantener la cubierta hidrofóbica del estómago. La lipasa y fosfolipasa-A promueven la formación de lisofosfolípidos, compuestos que alteran la integridad de la mucosa provocando daño (34).

## 6) HEMOLISINA.

Algunas cepas de *Helicobacter* producen una hemolisina de acción débil. La actividad hemolítica es independiente de la actividad de la ureasa. Las hemolisinas en general pueden ser citotóxicas e inducir inflamación.

## INFLAMACION.

Es bien conocido que la inflamación altera la integridad de las membranas celulares, en el caso de la colonización por *Helicobacter pylori* no hay excepción. Se comentarán a continuación algunos factores que participan en este proceso inflamatorio particular.

En general, el *Helicobacter pylori* se encuentra en la capa de moco o en la capa superficial del epitelio gástrico, sin embargo se han reportado casos en que invade la lámina propia, sobre todo en pacientes inmunodeficientes e inmunocompetentes (35). En caso de que ocurra invasión mucosa los antígenos del *Helicobacter* se presentan más

fácilmente al sistema inmune, pero también le permite resistir más la acción de los antimicrobianos. Se han identificado algunas sustancias en los filtrados de cultivos de *Helicobacter pylori* que pueden activar a los neutrófilos humanos. Una de estas sustancias es parecida a la N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP), conocido quimiotáxico para neutrófilos (36).

Algunas proteínas solubles de superficie del *Helicobacter pylori* inducen la expresión del antígeno de superficie HLA-DR y del receptor de interleucina-2 de los monocitos, inducen la síntesis de las citoquinas inflamatorias interleucina-1 y del factor de necrosis tumoral, así como la secreción del metabolito reactivo del anión superóxido. Por otra parte, algunas proteínas del *Helicobacter* activan los macrófagos de la lámina propia por mecanismos similares a los descritos. El factor activado de plaquetas producido por el *Helicobacter* puede provocar ulceración grave.

La fosfolipasa del *Helicobacter* provoca degradación de los fosfolípidos de membrana liberando ácido araquidónico, el que a su vez puede ser convertido en leucotrienos, prostaglandinas o tromboxanos (37). Los leucotrienos, metabolitos del ácido araquidónico, son quimiotácticos y citotóxicos en la mucosa gástrica. La concentración de leucotrieno B4 está muy elevada en los pacientes infectados con *Helicobacter pylori*.



Se sabe que la migración leucocitaria está muy disminuída, e incluso inhibida, en los pacientes infectados con *Helicobacter pylori* en comparación con la que ocurre en personas sanas.

## **MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.**

En general, las pruebas para el diagnóstico del *Helicobacter pylori* se basan en la actividad de su enzima ureasa, sin embargo, algunas cepas que no muestran esta actividad en forma importante suelen no ser detectadas por estos métodos. De este hecho, nace la necesidad de emplear otros estudios que aseguren la detección del organismo independientemente de sus características funcionales y ultraestructurales.

Los métodos diagnósticos para detectar infección por *Helicobacter pylori* pueden dividirse en invasivos y no invasivos, siendo los primeros aquellos que requieren la realización de endoscopia con toma de biopsia, y los segundos son aquellos que no requieren endoscopia.

Los métodos invasivos incluyen: Cultivo, prueba de ureasa rápida y de 24 Hrs. Los métodos no invasivos incluyen: Pruebas de aliento con urea marcada  $^{13}\text{C}$  ó  $^{14}\text{C}$  y determinación de anticuerpos séricos específicos. A continuación se comentarán algunos aspectos de cada uno de ellos (38).

### **CULTIVO.**

Se puede lograr el crecimiento hasta en el 90% de los casos cuando se sigue una metodología adecuada. Se pueden observar colonias a partir del tercer día de la

siembra, ocasionalmente hasta el séptimo día, mostrándose grisáceas y translúcidas, de 1 a 2 milímetros de diámetro, y provocando mínima hemólisis en el medio agar sangre (39). La técnica de cultivo y los medios utilizados se revisaron en el apartado de microbiología.

Se comprueba la existencia del microorganismo por medio de la tinción de Gram y por las pruebas de ureasa, catalasa y oxidasa positivas.

Se considera el estándar de oro para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* y los otros métodos diagnósticos se comparan con él.

### **ESTUDIO HISTOLOGICO.**

El *Helicobacter* puede ser visto en preparaciones teñidas con hematoxilina y eosina, recomendándose la hematoxilina de Mayers por ser la que tiñe más fuertemente a la bacteria. El microorganismo se distingue por su morfología y distribución en el epitelio gástrico.

Otras técnicas de tinción empleadas en el diagnóstico del *Helicobacter* son: La tinción de plata de Warthin-Starry que demuestra la bacteria más claramente por el depósito argéntico sobre su superficie, sin embargo es más cara y técnicamente más difícil; la tinción de Giemsa es una buena alternativa, el naranja de acridina y la tinción

de Gimenez pueden ser utilizadas. En realidad, la tinción utilizada dependerá de la experiencia y accesibilidad de cada departamento de patología (40). Existen además técnicas de tinción que utilizan anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* (41) y técnicas de hibridización *in situ* para el DNA del *Helicobacter pylori* (42).

### **PRUEBA DE UREASA.**

Esta prueba tiene su fundamento en la capacidad del *Helicobacter pylori* para producir ureasa, enzima que hidroliza la urea que se encuentra en el epitelio gástrico desdoblándola en amonio y bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), elevando el pH de la cavidad. Se han desarrollado varias alternativas a esta prueba

#### **1) PRUEBA RAPIDA.**

Se coloca un fragmento de biopsia gástrica en caldo de urea o agar. La ureasa hidroliza la urea en el caldo con la producción de iones amonio que aumentan el pH. El cambio de pH se detecta por el rojo fenol, un indicador que cambia de color amarillo en un pH de 6.8 a un rosa o magenta en un pH de 8.4, lo que se considera como positivo (38,39).

## 2) PRUEBA DE 24 HORAS.

Se basa en los mismos principios citados para la prueba rápida, sin embargo, en esta variante se deja el fragmento de biopsia en el reactivo y se lee hasta 24 horas después de colocado (38,39).

Estas variantes de la prueba de ureasa son consideradas como invasivas ya que requieren de la realización de endoscopia para la obtención de tejido mediante biopsias. Existen otras variantes de la pruebas de ureasa que no requieren de endoscopia para su realización y son consideradas como no invasivas.

Estas pruebas no invasivas, también llamadas de aliento, se basan en el catabolismo enzimático de la urea marcada con carbono 13 o 14 (C13 o C14) y la liberación de un metabolito (CO2) marcado que se elimina en el aire espirado y se recoge para su análisis (43).

## 3) PRUEBA DE CARBONO 13.

Tiene la ventaja de no ser radioactivo, característica que le permite ser usado en pacientes embarazadas y niños, sin embargo, requiere de un espectrofotómetro de masa para isótopos de gas, tecnología no muy difundida en el mundo. Esto motivó la modificación de la prueba dando lugar a la prueba con carbono 14 (44).

#### 4) PRUEBA DE CARBONO 14.

Su potencial radioactivo es relativo ya que existe una rápida eliminación del C02 por la espiración con un tiempo mínimo de contacto con el organismo. Puede ser cuantificado fácilmente con un contador gammagráfico convencional (45).

#### **DETERMINACION DE ANTICUERPOS.**

La mayoría de los pacientes infectados por *Helicobacter pylori* presentan una respuesta inmune demostrada por cantidades variables de anticuerpos específicos. Las clases y subclases de inmunoglobulinas circulantes correlacionan con una infección crónica prolongada en la mucosa, con predominio de IgG e IgA, encontrando IgM raramente, incluso en infección aguda en los niños (38). Los subtipos de IgG pueden brindar orientación en la etapa de la enfermedad, siendo la IgG-3 marcador de infección aguda, sin embargo raramente se detecta. Los niveles de IgG-1 e IgG-4 están significativamente elevados, al igual que IgG-2, aunque no en todos los casos (38).

Los anticuerpos pueden ser detectados por diferentes técnicas: Fijación de complemento, hemaglutinación, aglutinación bacteriana, inmunofluorescencia e inmunoensayo enzimático (ELISA), siendo esta última la más usada por sencilla, rápida y de bajo costo.

TABLA I  
 UTILIDAD DE LAS DIFERENTES PRUEBAS PARA EL DIAGNOSTICO  
 DE INFECCION POR *Helicobacter pylori*

PRUEBA	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	INVASIVIDAD
CULTIVO	83% - 90%	93%	SI
HISTOLOGIA	95%	91% - 97%	SI
UREASA RAPIDA	92%	85% - 90%	SI
UREASA 24 HRS.	67% - 77%	93%	SI
UREA C-13	96% - 99%	96% - 98%	NO
UREA C-14	96%	83% - 98%	NO
SEROLOGIA	96%	88% - 92%	NO

Tomado de: Dehesa. DIAGNOSTICO EN INFECCION POR *Helicobacter pylori*.

Rev Gastroenterol Méx 1993. 58 (2): 94.

## HELICOBACTER PYLORI Y GASTRITIS CRONICA ACTIVA.

En la actualidad, se reconoce plenamente al *Helicobacter pylori* como la causa más frecuente de gastritis inespecífica no erosiva. Para entender esta afirmación es importante esclarecer los términos (46):

GASTROPATIA: Se refiere a la lesión de la mucosa gástrica que no posee inflamación como fenómeno característico, y cuyos cambios más importantes son epiteliales o vasculares.

GASTRITIS: Se refiere a la lesión de la mucosa gástrica manifestada principalmente por infiltrado inflamatorio polimorfonuclear o mononuclear acompañado o no de otros fenómenos característicos. A su vez, la gastritis puede dividirse en las siguientes variantes:

### 1) GASTRITIS EROSIVA Y HEMORRAGICA.

Las lesiones se diagnostican endoscópicamente y se presentan con mayor frecuencia en pacientes gravemente enfermos o en quienes ingieren antiinflamatorios no esteroideos.

### 2) GASTRITIS INESPECIFICA NO EROSIVA.

Su diagnóstico es histológico y su causa más frecuente es el *H.pylori*. Es "inespecífica" porque no traduce la causa o el estado clínico del paciente.



### 3) GASTRITIS ESPECIFICA.

Se refiere a aquella *lesión de la mucosa gástrica* que es característica de alguna patología en especial, como la enfermedad de Menetrier o la hiperplasia linfoide.

En este apartado se tratará con mayor detalle a la gastritis inespecífica no erosiva por ser la *directamente relacionada con la presencia del H.pylori.*

Existen cuatro patrones en la distribución de la inflamación en este tipo de gastritis: De glándulas antrales, de glándulas fúndicas, pangastritis y gastritis atrófica multifocal. La más común es la gastritis de glándulas antrales o antral, también llamada gastritis tipo "B" siendo la que más se asocia a la *colonización por H.pylori*, mientras que la gastritis de las glándulas fúndicas o del fundus, también llamada gastritis de tipo "A" se asocia a la mucosa atrófica de la anemia perniciosa.

Las características histológicas pueden variar de acuerdo a los siguientes parámetros (46):

#### PROFUNDIDAD DE LA LESION:

- 1) Gastritis superficial. Las células inflamatorias no van más allá de la región foveolar y las glándulas están intactas.
- 2) Gastritis panmucosa. Las células inflamatorias ocupan todo el espesor de la mucosa pero las glándulas permanecen intactas.

3) Gastritis atrófica. Las células inflamatorias son variables en la profundidad de la lesión, hay pérdida de las glándulas y metaplasia intestinal prominente.

#### TIPO DE CELULAS INFLAMATORIAS.

1) Gastritis crónica.

Predominio de mononucleares; los neutrófilos raramente se presentan solos.

2) Gastritis crónica activa.

Coexistencia de mononucleares y neutrófilos en proporciones similares.

De todos estos conceptos se desprende la clasificación de la lesión que se observa en la colonización por *H.pylori* siendo la nominación correcta la de 'gastritis antral superficial crónica activa'.

La forma en que el *Helicobacter pylori* provoca daño al epitelio gástrico depende de los factores de virulencia y mecanismos patogénicos específicos de la bacteria, explicados previamente en otro apartado, sin embargo, se tratará de sintetizar los conceptos señalados a manera de teoría patogénica de la lesión.

El microorganismo se encuentra dentro de la capa de moco del epitelio gástrico y parece ser apto para moverse dentro de ella con facilidad, se cree que la bacteria

reduce la capacidad del moco para retrasar la difusión de ácido clorhídrico, de hecho, el *Helicobacter* produce una proteasa capaz de digerir el moco (47).

La bacteria produce diversas sustancias que por sí mismas provocan alteraciones en la homeostasis del medio ambiente gástrico. La más importante, o al menos la más estudiada, es la ureasa, que provoca la elevación del pH mediante el aumento de amonio. Este microambiente alcalino puede dañar el epitelio gástrico en forma directa. Por otra parte, la liberación de endotoxinas y péptidos formilados pueden participar en el inicio de la respuesta inflamatoria, estimulando a los macrófagos que liberan varias citocinas como la interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral contribuyendo tanto a la inflamación como a la degeneración mucosa que acompaña a la infección. Los péptidos formilados como la f-metionil-leucil-fenilalanina (fMLP) son quimiotácticos para los granulocitos y estimulan la liberación de radicales libres de oxígeno y proteasas de los mismos. Algunos péptidos formilados también activan células cebadas provocando la liberación de mediadores de la inflamación y citocinas (47).

A pesar de que en este modelo se supone la presencia de factores quimiotácticos responsables de la infiltración por neutrófilos, eosinófilos y linfocitos la evidencia para apoyar esta hipótesis no es suficiente. De hecho, existen trabajos que ponen en duda la verdadera acción de sustancias como el factor de agregación plaquetaria (PAF) y los leucotrienos.

Un hecho sin discusión es la presencia de hipergastrinemia en los pacientes con infección por *H.pylori*. Tomando en cuenta los conocidos mecanismos que intervienen en la regulación de la secreción de gastrina, podemos agregar que el *Helicobacter* puede producir aminas y péptidos que estimulan en forma directa a las células G, o bien que puede producir compuestos del tipo acetilcolina que inhiban o destruyan en forma selectiva a las células productoras de somatostatina (48).

Los cambios observados en el epitelio colonizado incluyen: depleción de mucina, pérdida de la polaridad nuclear y crecimiento del núcleo. Estos cambios desaparecen al erradicar al *H.pylori*.

## HELICOBACTER PYLORI Y ULCERA DUODENAL.

La prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* y úlcera duodenal se establece entre el 95 y 100% en casi todas las series (49). Esta es una relación que no se ha aceptado mundialmente como ocurre con la relación entre *Helicobacter pylori* y gastritis crónica inespecífica. Sólo el 10% de pacientes con *Helicobacter pylori* desarrollan úlcera duodenal, y la presencia de aquél se acepta más como factor de riesgo que como causa dominante.

## ENFERMEDAD ULCEROSA DUODENAL.

En términos generales, se conoce que los pacientes con úlcera duodenal poseen una secreción basal de ácido aumentada, mayor número de células parietales las cuales son más sensibles y responden más a niveles normales de gastrina que los sujetos sanos. Más aún, se han demostrado niveles elevados de pepsinógeno-1 y sólo ocasionalmente se ha observado un comportamiento genético en la enfermedad ulcerosa duodenal.

Se sabe desde hace tiempo que la úlcera péptica en general se asocia a la gastritis. Por su parte, la gastritis que se asocia a la úlcera duodenal es de localización antral preferentemente, con muy pobre afectación del cuerpo. La mucosa del antro muestra infiltración por linfocitos y células plasmáticas con folículos linfoides ocasionales,

con un componente neutrófilo en la lamina propia o infiltrando el epitelio foveolar o superficial. La atrofia glandular está ausente o es mínima (50).

La fuerte asociación entre gastritis y úlcera duodenal no implica necesariamente una relación causa-efecto, sin embargo, estudios como el de Sipponen (51) demuestran una relación entre la presencia de gastritis crónica y la aparición de úlcera péptica en el 10 a 15% de los pacientes. De la misma forma, existe un relación estrecha entre la presencia de duodenitis crónica con zonas de metaplasia gástrica y la aparición de una úlcera. La metaplasia gástrica no se restringe a la duodenitis y puede estar presente en individuos sanos (52).

La relación etiopatogénica entre la presencia de *Helicobacter pylori* y la aparición de gastritis crónica está bien establecida y se considera irrefutable. Sin embargo, una relación semejante en lo que corresponde a la duodenitis ha sido más difícil de establecer. También es conocido que el *Helicobacter pylori* tiene gran afinidad a las células del epitelio gástrico, por lo que la presencia de metaplasia gástrica permite la colonización de este organismo en el duodeno. De hecho, el *Helicobacter pylori* puede observarse en el duodeno de prácticamente todos los pacientes con duodenitis activa o úlcera duodenal, pero no en aquéllos con histología normal o inflamación inactiva, tal y como lo demostro Johnston (53).

Como resultado de la inflamación crónica activa la resistencia de la mucosa se ve alterada, y el ataque ácido sobre una mucosa debilitada provoca inicialmente erosiones y posteriormente una ulceración franca. En base a esto, la inactivación de la inflamación, por ejemplo al erradicar al *Helicobacter*, mejora paulatinamente la histología del duodeno

Retomando los factores fisiopatológicos encontrados en la úlcera duodenal recordemos que los pacientes que la padecen tiene más células parietales y secretan más ácido que los sujetos normales y la gastrina sérica basal es normal pero su liberación después de una comida es exagerada. Esta liberación postprandial exagerada parece estar en relación con la inflamación y el *Helicobacter pylori* (54) Al hidrolizar la urea y producir amonio en la capa mucosa, el *Helicobacter* interfiere con la retroalimentación negativa del ácido luminal en las células G (55). Además se ha propuesto que los mediadores de inflamación como la interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral pueden provocar hipergastrinemia. Incluso puede haber hipersecreción compensatoria de gastrina en respuesta a la disminución en el número de células parietales provocada por algún producto del *Helicobacter*. La homeostasis normal de la gastrina regresa una vez que se ha erradicado al microorganismo.

Si bien es cierto que la enfermedad ulcerosa duodenal es multifactorial, llama la atención el hecho de que en condiciones similares no todos los pacientes infectados por *Helicobacter pylori* desarrollen úlcera duodenal. Esto trata de explicarse con la existencia de diferentes cepas de *Helicobacter*, algunas de las cuales posean mayor potencial

ulcerógeno que otras. En los microorganismos aislados de pacientes con úlcera duodenal se ha encontrado una citotoxina que provoca vacuolización en las células epiteliales cultivadas. Estudios recientes han demostrado la presencia de una proteína de 120-kd asociada a gastritis más grave y enfermedad ulcerosa (50).

## **ERRADICACION DEL HELICOBACTER Y SU EFECTO EN LA ULCERA DUODENAL.**

Un hecho bien establecido es la recurrencia de la úlcera duodenal una vez que aparentemente ha curado con tratamiento antiácido adecuado. Se refieren tasas de recurrencia de aproximadamente 90% a un año sin terapia de mantenimiento. Ahora se conoce que la erradicación del *Helicobacter* se asocia a una disminución importante y significativa en la recurrencia de la úlcera duodenal aún sin terapia de mantenimiento, asegurando de que en caso de recurrencia ésta pudiese ser secundaria a un agravamiento de la infección que se encontraba en un estado de erradicación incompleta o incluso una reinfección verdadera. Debe entenderse que el término erradicación se refiere a la ausencia de *Helicobacter pylori* un mes después de que ha finalizado un esquema completo de tratamiento, y reinfección como la presencia de *Helicobacter* una vez que se estableció previamente la erradicación del mismo (55).

De estos conceptos surge la necesidad de comentar acerca de los esquemas utilizados en el tratamiento contra este microorganismo, que aunque serán abordados



ampliamente en otro apartado, es oportuno señalar que existen varios medicamentos y esquemas diferentes de combinación para el uso de los mismos, encontrando las mejores respuestas en la asociación de un antibiótico y la disminución de la producción ácida en el estómago

Con los datos señalados en cuanto a la fisiopatología de la úlcera duodenal, las características especiales de la infección por *Helicobacter* y la disminución en la recurrencia de la úlcera duodenal al erradicar el microorganismo se considera que hay suficientes datos para considerar a la enfermedad ulcerosa duodenal como un padecimiento infeccioso.

Este concepto no es aceptado por todos los investigadores y médicos en todo el mundo, actitud entendible por el largo tiempo en el que se han manejado conceptos totalmente diferentes. Hechos como el por qué la inflamación se limita al antro gástrico y bulbo duodenal con la consecuente alteración en la homeostasis de la secreción de gastrina, y el por qué la úlcera duodenal se comporta como un fenómeno localizado y periódico en relación a un estado inflamatorio crónico necesitan ser esclarecidos.

## HELICOBACTER PYLORI Y CANCER GASTRICO.

Desde principios de este siglo, los primeros estudios que describieron la presencia de bacterias en el estómago humano fueron realizados en pacientes con carcinoma gástrico. Esta evidencia ha despertado el interés de varios investigadores para intentar relacionar la infección por *Helicobacter pylori* con el desarrollo de cáncer gástrico. El apoyo para esta hipótesis proviene de estudios epidemiológicos comparativos y de estudios retrospectivos y prospectivos. Los principales enunciados a favor y en contra de esta hipótesis se enumeran a continuación:

\* Al igual que el cáncer gástrico, la infección por *H.pylori* muestra regiones geográficas de alta prevalencia. Son ejemplos Perú, México y Colombia, con tasas de incidencia de cáncer gástrico que pueden considerarlo como endémico y en donde prácticamente todos los adultos están infectados por *H.pylori* (56).

\* En algunos países como Japón, la prevalencia de infección por *H.pylori* ha disminuido con el tiempo tal y como ha ocurrido con el cáncer gástrico. En un estudio realizado en un banco de sueros buscando anticuerpos específicos contra *H.pylori* se encontró una prevalencia que correlacionó en forma inversa al año de nacimiento (57). Sin embargo, ya que la infección debe preceder a la aparición de la neoplasia por varios años la disminución de las prevalencias en forma simultánea debe ser tomada con cautela.

\* Se han reportado tasas de infección por *H.pylori* del 50% al 100% en pacientes con adenocarcinoma gástrico. Esto varía de acuerdo a la población estudiada, siendo la más afectada para ambos grupos aquella con un estrato socioeconómico bajo (58).

\* La infección por *H.pylori* aumenta el riesgo para el ulterior desarrollo de malignidad gástrica. El aumento en el riesgo se observó sobre todo en adenocarcinomas del antro, cuerpo y fundus, sin cambios en los tumores del cardias o de la unión esófago-gástrica. El cáncer observado con mayor frecuencia fue el de tipo intestinal (57,59).

Con los conceptos anteriormente mencionados podemos al menos establecer que la infección por *H.pylori* es un marcador de riesgo elevado para desarrollar cáncer gástrico, siendo más probable el desarrollo del tipo intestinal. De ahí que se ha intentado ofrecer una nueva hipótesis para la carcinogénesis a nivel gástrico en comparación a la sugerida por Correa en 1975. La nueva hipótesis postula que los productos metabólicos del microorganismo provocan transformación directa de la mucosa, y que al igual que la carcinogénesis por virus, el DNA del *H.pylori* se incorpora a las células huésped provocando transformación. Además, la bacteria produce una respuesta inflamatoria que puede ser genotóxica por sí misma. Todas estas consideraciones necesitan mayor estudio (60).

## **TRATAMIENTO DE LA INFECCION POR HELICOBACTER PYLORI.**

En 1983, año en que se logró aislar al *Helicobacter pylori* y relacionarlo con la úlcera duodenal, sólo se contaba con el subcitrate de bismuto para su tratamiento, desde entonces los medicamentos y estrategias de tratamiento para la erradicación del microorganismo han evolucionado notablemente.

Para documentar la erradicación del *H.pylori* se debe obtener material para biopsia por lo menos 28 días después de haber concluido el tratamiento. La ausencia de *H.pylori* en el cultivo establece la erradicación. Si esta metodología no está disponible, se pueden utilizar los títulos de anticuerpos del tipo IgG como marcadores, estableciendo la erradicación si los títulos disminuyen en forma consistente a los 3 y 6 meses de haber terminado el tratamiento (75).

### **ANTIBIOTICOS.**

#### **1) AMOXICILINA.**

Ha sido utilizada más por su conveniencia en la dosificación que por su eficacia. Casi todas las cepas de *H.pylori* son sensibles a la amoxicilina al igual que la ampicilina que es más barata, sin embargo no se han realizado estudios comparativos. Por sí sola, la amoxicilina ofrece una erradicación del 20% con dosis de 2gr. diarios (75). Por lo que se recomienda su uso en terapias combinadas a dosis de 500mg. cuatro veces al día.

El principal efecto colateral de la amoxicilina es la colitis por *Clostridium difficile* en el 5% de los casos, lo cual puede ser prevenido con la administración conjunta de Metronidazol

## 2) TETRACICLINA.

Es estable y activa en medio ácido y alcanza concentraciones elevadas en la mucosa gástrica. Es ineficaz para la erradicación del *H.pylori* por sí sola, sin embargo es útil para la supresión prolongada a dosis de 250mg. cada 3 horas por 4 semanas en los pacientes que no pueden recibir otro tratamiento (76).

El uso de tetraciclina y bismuto no se recomienda para la mayoría de las infecciones ya que presentan quelación y no se absorben, sin embargo, en el caso de infección por *H.pylori* este puede ser un efecto benéfico. La otra tetraciclina que puede ser utilizada en el tratamiento de la infección por *H.pylori* es la doxiciclina.

## 3) METRONIDAZOL.

En los países occidentales aproximadamente el 75% de las cepas de *H.pylori* son sensibles al metronidazol (78). Sin embargo, cuando se utiliza como único medicamento raramente se erradica y se desarrolla resistencia en casi todos los casos, por lo que se recomienda utilizarlo siempre en terapias combinadas ya que la resistencia usualmente no se desarrolla si un segundo antimicrobiano se prescribe en forma conjunta (76)

#### 4) OTROS ANTIMICROBIANOS.

- a) Nitrofurantoína y Furazolidona. No se recomiendan como medicamentos en terapia única, aún a dosis altas. Los efectos colaterales a nivel del estómago hacen difícil valorar la respuesta clínica. Pueden utilizarse como antimicrobianos lumbinales conjuntamente con bismuto, tetraciclina o amoxicilina.
- b) Quinolonas. Inhiben al *H.pylori* in vitro pero su eficacia es limitada in vivo. No se deben utilizar como monoterapia, pero pueden ser utilizadas en infecciones resistentes a otros antimicrobianos. Existe un reporte de mejoría en la curación de úlcera duodenal con la combinación de ofloxacina y ranitidina (76).
- c) Eritromicina. Su índice de erradicación es del 20% como monoterapia. Sus efectos colaterales sobre todo a nivel gástrico limitan su uso. Puede desarrollarse resistencia.

#### **SALES DE BISMUTO.**

##### 1) SUBCÍTRATO DE BISMUTO.

Fue el primer medicamento utilizado para la erradicación del *H.pylori*. Es útil en la curación de úlceras refractarias al tratamiento con bloqueadores de los receptores H2. Se recomiendan 2 tabletas dos veces al día con la presentación actual.

## 2) SUBSALICILATO DE BISMUTO.

Se desdobra en oxiclورو de bismuto y salicilato en el estómago; el salicilato se excreta por orina. Como terapia única se obtiene la erradicación del *H.pylori* en el 10% de los casos. Se recomienda utilizarlo en combinación con otros medicamentos como la tetraciclina y metronidazol (76).

## ANTIACIDOS.

### 1) OMEPRAZOL.

Se ha propuesto que el omeprazol aumenta la penetración del antimicrobiano al proveer un pH neutro o alcalino. Generalmente se recomienda utilizarlo en forma combinada. Su alto costo limita su uso.

## ESQUEMAS DE TRATAMIENTO.

### 1) TRIPLE ESQUEMA.

El triple esquema tiene la ventaja de ofrecer actividad luminal y sistémica. Los agentes con acción luminal son: bismuto, tetraciclina y amoxicilina o ampicilina. La combinación de dos agentes luminales ofrece erradicación en el 40% de los casos (76).

El triple esquema más utilizado es el siguiente:

- \* Subsalicilato de bismuto. 2 tabletas cada 6 horas por 8 semanas.
- \* Tetraciclina. 250mg vía oral cada 6 horas por 2 semanas.
- \* Metronidazol. 500mg vía oral cada 8 horas por 2 semanas.

Con este esquema se puede llegar a obtener erradicación en el 90% de los casos (79).

## 2) AMOXICILINA + OMEPRAZOL.

Se han reportado tasas de erradicación del 80% con el siguiente esquema:

- \* Amoxicilina 1 gr. dos veces al día por 2 semanas.
- \* Omeprazol. 40 a 80 mg al día por 2 semanas. Se continúa con 20 a 40 mg al día por dos semanas más.

## 3) OTROS ESQUEMAS.

Se han descrito otros esquemas de tratamiento con la combinación de dos o más medicamentos, sin embargo las tasas de curación no han superado a las descritas previamente (76).



## HELICOBACTER PYLORI E INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.

La prevalencia de *ulcera gastroduodenal* en los pacientes portadores de insuficiencia renal crónica es *controversial*, sin embargo, en términos generales se puede concluir que las tasas reportadas son menores a las encontradas en dichos pacientes una vez que han sido *trasplantados*.

Por ejemplo, en el estudio de Gordon (61) se reporta una incidencia de *ulceración* del 7% en los *pacientes sometidos a diálisis por uremia*, mientras que Sheperd (62) reporta una incidencia del 53%. De igual forma, en los estudios de Dorph (63), Dekkers (64) y Ventkateswaran (65), realizados en *pacientes urémicos dializados y no dializados*, se reportan *índices del 1.1%, 19.2% y 25.0% respectivamente*.

En cambio, Dekkers (64) no encontró *úlceras* en un grupo de 34 *pacientes urémicos sometidos a hemodiálisis* y 14 *pacientes urémicos sometidos a diálisis peritoneal*. Salera (66) encontró *erosiones gástricas* en sólo 6.9% de 29 *pacientes urémicos*, algunos *dializados y otros no*. Es importante señalar que no en todos los estudios mencionados se realizó *endoscopia* como método diagnóstico para establecer la presencia de *úlceras*, por lo que los resultados *deben ser tomados con precaución*. De cualquier modo, el concepto que parece no tener discusión es el hecho de que en los *pacientes con insuficiencia renal crónica* la frecuencia de *ulcera péptica* así como de otras entidades relacionadas al aparato digestivo aumenta aún a los *pocos meses de realizado el trasplante renal* (67).

Es un hecho sin discusión que la supervivencia del *Helicobacter pylori* en el medio ácido del estómago se debe en gran parte a la capacidad de sintetizar la enzima ureasa, la cual le permite elevar el pH intragástrico al desdoblar la urea en bióxido de carbono y amonio (68). En este contexto, la insuficiencia renal crónica caracterizada a nivel gástrico por un aumento en la difusión de urea al epitelio superficial, no debe representar dificultad al *Helicobacter* para su colonización. Sin embargo, no hay evidencia suficiente para apoyar esta hipótesis, y la realidad es que la disminución en la incidencia de gastritis crónica en los pacientes con insuficiencia renal crónica sugiere que el *Helicobacter pylori* no es tan común como pudiera esperarse. Los estudios acerca de esta condición son contradictorios, ya que Ala-Kaila (68) reporta frecuencia del 17%, Shousha (69) reporta 24%, Wee (70) reportó 31% y Conz (71) reportó hasta 54.7%, pudiendo concluir al menos que la frecuencia de colonización por *Helicobacter pylori* en pacientes con insuficiencia renal crónica es menor que la observada en la población abierta no urémica, ya que se reportan tasas del 70% al 80% en Europa (72) y del 54.4% al 82% en México (73).

La posible o posibles explicaciones del comportamiento diferente del *Helicobacter pylori* en la insuficiencia renal crónica aún están en discusión, lo que implica que los estudios para encontrar la explicación deben continuar hasta lograr esclarecer el mecanismo fisiopatológico y las potenciales formas de disminución de la frecuencia y/o erradicación del microorganismo.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los pacientes con insuficiencia renal crónica poseen concentraciones elevadas de urea en el plasma, las que a su vez, condicionan cifras elevadas de urea en el epitelio superficial del estómago por un mecanismo de difusión simple con equilibrio de concentraciones. El *Helicobacter pylori* posee la capacidad de modificar el medio ácido habitual del estómago mediante su enzima ureasa, que desdobla la urea en amonio y agua elevando el pH de la cavidad gástrica estableciendo las condiciones óptimas para su supervivencia.

Las tasas de colonización por *Helicobacter pylori* en la población abierta se han reportado en 70% en promedio con un amplio rango de variación. Llama la atención el hecho de que la colonización en pacientes con insuficiencia renal crónica en etapa terminal y sometidos a diálisis peritoneal o hemodiálisis se reporta entre un 17% y 54.7% (68-71), que comparadas con las reportadas para la población abierta resultan ser más bajas. La explicación de este fenómeno aún no ha sido esclarecida. Por estos hechos, la asociación de insuficiencia renal crónica e infección por *Helicobacter pylori* es de especial interés.

En nuestro país no contamos con estudios epidemiológicos y estadísticas confiables. como tampoco pueden ser aplicables las tasas e índices obtenidos en otros países, sobre todo en padecimientos en que la higiene social y el desarrollo urbano son parte importante del ciclo vital o la fisiopatología de un agente patógeno.

La falta de estos datos nos obliga a encaminar los estudios al logro de cifras confiables que sirvan como marco de referencia para el inicio o continuación de investigaciones que permitan obtener la cura o forma de controlar un padecimiento específico.

Por todo lo expuesto, y en el contexto de la colonización por *Helicobacter pylori* en los pacientes portadores de insuficiencia renal crónica, es necesario responder a la siguiente pregunta:

**¿Cuál es la frecuencia de colonización del epitelio superficial del estómago por *Helicobacter pylori* en los pacientes portadores de insuficiencia renal crónica en nuestro medio ?**

## OBJETIVOS.

- 1) Establecer la frecuencia de colonización del epitelio superficial del estómago por *Helicobacter pylori* en los pacientes portadores de insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.
- 2) Comparar la frecuencia de esta colonización con la frecuencia encontrada en pacientes no portadores de insuficiencia renal crónica que acuden al servicio de Gastroenterología para la realización de endoscopia digestiva alta.

## HIPOTESIS.

La frecuencia de colonización del epitelio superficial del estómago por *Helicobacter pylori* en los pacientes portadores de insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social es menor que la frecuencia presentada en personas sin insuficiencia renal crónica.

## OBJETIVOS.

- 1) Establecer la frecuencia de colonización del epitelio superficial del estómago por *Helicobacter pylori* en los pacientes portadores de insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.
- 2) Comparar la frecuencia de esta colonización con la frecuencia encontrada en pacientes no portadores de insuficiencia renal crónica que acuden al servicio de Gastroenterología para la realización de endoscopia digestiva alta.

## HIPOTESIS.

La frecuencia de colonización del epitelio superficial del estómago por *Helicobacter pylori* en los pacientes portadores de insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social es menor que la frecuencia presentada en personas sin insuficiencia renal crónica.

## **MATERIAL, PACIENTES Y METODOS.**

### **1 - DISEÑO DEL ESTUDIO.**

Se trata de un estudio de casos y controles, prospectivo, transversal, comparativo y observacional.

### **2.- UNIVERSO DE TRABAJO.**

Se estudiarán los pacientes con insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal del Servicio de Nefrología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del I.M.S.S., a quienes como parte de su protocolo de trasplante les sea solicitado un estudio endoscópico de tubo digestivo alto en el período comprendido entre el 1o. de Octubre de 1993 al 31 de Diciembre de 1993. Así como a un grupo de pacientes semejantes en edad y sexo, sin insuficiencia renal crónica, con indicación para la realización de una endoscopia digestiva alta.

### **3.- DESCRIPCION DE LAS VARIABLES.**

- a) Variables independientes: Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica en protocolo de trasplante renal. Pacientes no urémicos con indicación para endoscopia.
- b) Variable dependiente: Cultivo para H. pylori positivo.

#### 4.- SELECCION DE LA MUESTRA.

##### a) Tamaño de la muestra:

Se estudiarán 20 pacientes con insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional sXXI del I.M.S.S., y 20 pacientes no urémicos que acudan al servicio para realización de endoscopia digestiva alta.

##### b) Criterios de selección:

###### b1 - Criterios de inclusión:

- \* Pacientes de ambos sexos.
- \* Mayores de 18 años de edad.
- \* Con insuficiencia renal crónica y que se encuentren en protocolo de trasplante renal con diálisis peritoneal o hemodiálisis como tratamiento de sostén (para el grupo en estudio).
- \* Ausencia de insuficiencia renal crónica y con indicación para realización de estudio endoscópico (para el grupo control).
- \* Sin otra patología sistémica grave asociada que impida la realización del estudio endoscópico.
- \* Que acepten participar en el estudio y firmen el consentimiento escrito.



b2.- Criterios de no inclusión:

- \* Pacientes menores de 18 años de edad.
- \* Personas que no acepten participar en el estudio y no firmen consentimiento escrito.
- \* Pacientes que hubiesen recibido antibióticos de cualquier tipo y por cualquier vía en los tres meses previos al estudio.
- \* Pacientes que presenten cualquier indicación absoluta para la realización de endoscopia digestiva alta.

b3.- Criterios de exclusión:

- \* Pacientes que soliciten ser excluidos del estudio.
- \* Pacientes en que no se logre obtener material de biopsia útil para el análisis bacteriológico e histológico.
- \* Pacientes en que no se logre obtener sangre venosa para el estudio serológico.

## PROCEDIMIENTOS.

Una vez seleccionados los pacientes con insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal que hayan cumplido con los criterios de inclusión al estudio se procederá de la siguiente forma:

1 - Se realizará endoscopia digestiva alta con la técnica habitual que se lleva en el Servicio. Durante el procedimiento se tomarán 2 biopsias del cuerpo y 2 biopsias del antro gástricos. Una biopsia de cuerpo y una de biopsia de antro serán colocadas en formaldehído al 10%, y serán llevadas al servicio de anatomía patológica para su estudio. De igual forma, una biopsia de cuerpo y otra de antro serán colocadas en medio de transporte y serán llevadas al laboratorio de investigación.

2 - Se obtendrán 10 c.c. de sangre venosa periférica por punción simple y serán colocados en dos tubos de ensayo estériles, conteniendo cada uno 5 c.c. Estos tubos también serán llevados al laboratorio de investigación.

3.- Una vez en el laboratorio, las biopsias en medio de transporte serán examinadas con urea de Christensen a un pH de 6.8 y cultivadas en medio BHI suplementado con sangre de caballo defibrinada al 100%, vancomicina y anfotericina a dosis de 6ug/ml cada una y polienriquecimiento al 1% (factores de coagulación V y X). Los medios serán incubados a 37.0 grados Centígrados durante 18 a 24 Hrs., en un medio microaerofílico

(O<sub>2</sub> = 5%, CO<sub>2</sub> = 10% y N<sub>2</sub> = 85%) con revisiones a los 3, 5 y 7 días considerando positivo al crecimiento similar al de referencia (cepa de referencia). Al crecimiento obtenido se le realizarán pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa y tinción de Gram.

4.- La sangre será centrifugada y al plasma le será cuantificada la concentración de anticuerpos del tipo IgG específicos contra *H.pylori* con un estándar bajo de D.O. = 0.23 nm, un estándar alto de D.O. = 1.5 nm y un control positivo de D.O. = 0.54 nm.

5.- Las biopsias fijadas en formaldehído serán teñidas con Hematoxilina y Eosina y revisadas en busca de *H.pylori*. De ser necesario se realizará también tinción de Giemsa al tejido

### **ANALISIS ESTADISTICO.**

Una vez obtenidos los resultados se procesarán mediante la prueba de X<sup>2</sup> (chi cuadrada).

(O<sub>2</sub> = 5%, CO<sub>2</sub> = 10% y N<sub>2</sub> = 85%) con revisiones a los 3, 5 y 7 días considerando positivo al crecimiento similar al de referencia (cepa de referencia). Al crecimiento obtenido se le realizarán pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa y tinción de Gram

4 - La sangre será centrifugada y al plasma le será cuantificada la concentración de anticuerpos del tipo IgG específicos contra H.pylori con un estándar bajo de D.O.=0.23 nm, un estándar alto de D.O.=1.5nm y un control positivo de D.O.=0.54 nm

5 - Las biopsias fijadas en formaldehído serán teñidas con Hematoxilina y Eosina y revisadas en busca de H.pylori. De ser necesario se realizará también tinción de Giemsa al tejido.

### **ANALISIS ESTADISTICO.**

Una vez obtenidos los resultados se procesarán mediante la prueba de X<sup>2</sup> (chi cuadrada).

## **CONSIDERACIONES ETICAS.**

El presente protocolo fue diseñado teniendo en cuenta las normas internacionales para el estudio experimental en seres humanos.

Los procedimientos que serán utilizados (endoscopia digestiva alta con toma de biopsias y punción venosa) han demostrado su alto margen de seguridad en manos experimentadas con un índice bajo de morbilidad inherente al procedimiento y prácticamente sin mortalidad.

Todos los pacientes participantes en el estudio firmarán su consentimiento escrito una vez le sea explicada la finalidad del mismo. El protocolo será remitido al Departamento de Enseñanza y al Comité Local de Investigación para su revisión y eventual aprobación para llevarse a cabo.

## **RECURSOS PARA EL ESTUDIO.**

### **1 - Recursos humanos:**

Participarán en este estudio el personal médico y paramédico, así como los auxiliares técnicos de cada Servicio en su tiempo habitual de trabajo dedicado a la investigación.

## **CONSIDERACIONES ETICAS.**

El presente protocolo fue diseñado teniendo en cuenta las normas internacionales para el estudio experimental en seres humanos.

Los procedimientos que serán utilizados (endoscopia digestiva alta con toma de biopsias y punción venosa) han demostrado su alto margen de seguridad en manos experimentadas con un índice bajo de morbilidad inherente al procedimiento y prácticamente sin mortalidad.

Todos los pacientes participantes en el estudio firmarán su consentimiento escrito una vez le sea explicada la finalidad del mismo. El protocolo será remitido al Departamento de Enseñanza y al Comité Local de Investigación para su revisión y eventual aprobación para llevarse a cabo.

## **RECURSOS PARA EL ESTUDIO.**

### **1.- Recursos humanos:**

Participarán en este estudio el personal médico y paramédico, así como los auxiliares técnicos de cada Servicio en su tiempo habitual de trabajo dedicado a la investigación.

2.- Recursos materiales:

Se utilizará en el estudio el material e instrumental que forma parte del inventario de cada Servicio.

Además de sangre de caballo, urea de Christensen y medio BHI que serán adquiridos de acuerdo a las necesidades del estudio.

3.- Recursos financieros:

Cada Servicio trabajará con su propios recursos financieros.

### **CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.**

AGOSTO..... Revisión bibliográfica.

Presentación del proyecto a los servicios participantes.

SEPTIEMBRE..... Realización del protocolo.

Revisión por parte del Servicio.

OCTUBRE..... Presentación del protocolo a Enseñanza.

NOVIEMBRE..... Inicia el estudio el día 1º.

DICIEMBRE..... Termina el estudio el día 31.

2.- Recursos materiales:

Se utilizará en el estudio el material e instrumental que forma parte del inventario de cada Servicio.

Además de sangre de caballo, urea de Christensen y medio BHI que serán adquiridos de acuerdo a las necesidades del estudio.

3.- Recursos financieros:

Cada Servicio trabajará con su propios recursos financieros.

### **CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.**

AGOSTO..... Revisión bibliográfica.

Presentación del proyecto a los servicios participantes.

SEPTIEMBRE..... Realización del protocolo.

Revisión por parte del Servicio.

OCTUBRE..... Presentación del protocolo a Enseñanza.

NOVIEMBRE... .. Inicia el estudio el día 1º.

DICIEMBRE..... Termina el estudio el día 31.



## RESULTADOS.

Los resultados obtenidos en forma general se esquematizan en la siguiente tabla:

VARIABLES	NO UREMICOS	UREMICOS	SIGNIFICANCIA
HOMBRES	11 (55%)	11 (55%)	NS
MUJERES	9 (45%)	9 (45%)	NS
EDAD	47.0 (DE=10.5)	37.0 (DE=12.5)	p = < 0.01
HP POSITIVO	14 (70%)	9 (45%)	NS
HP NEGATIVO	6 (30%)	11 (55%)	NS

Revisando por separado los métodos utilizados en este estudio, encontramos que con el cultivo se obtuvo una sensibilidad del 87% y una especificidad del 90%, comparado con la histología que mostró una sensibilidad del 95% y una especificidad del 97%. Por otra parte, la prueba de ureasa demostró una sensibilidad del 87% y una especificidad del 89%. La serología demostró una sensibilidad del 94% y una especificidad del 90%. Todos estos valores concuerdan con lo reportado en la literatura mundial y del país.

## CONCLUSIONES.

- 1) La frecuencia de colonización del epitelio gástrico superficial por *Helicobacter pylori* en pacientes portadores de insuficiencia renal crónica en protocolo de trasplante renal en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social es del 45%. Cifra comparable a las tasa reportadas tanto a nivel nacional como internacional.
  
- 2) El tamaño de la muestra probablemente fue factor importante para no lograr significancia estadística en el estudio.
  
- 3) La explicación del comportamiento diferente del *Helicobacter pylori* en los pacientes urémicos pudiera deberse a:
  - a) Su enzima ureasa, al igual que cualquier sistema enzimático, pudiera presentar saturación y por ello la facultad de protección que confiere al *Helicobacter* se vería disminuída.
  
  - b) La cepa que coloniza a los pacientes urémicos pudiera ser morfológica y bioquímicamente diferente a las cepas que afectan a otras personas. Tal y como ocurre con las cepas vacuolizantes o las cepas encontradas en pacientes con carcinoma gástrico

## BIBLIOGRAFIA.

- 1) Bizzozero B. BACKGROUND AND HISTORICAL CONSIDERATIONS OF HELICOBACTER PYLORI. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):1-4.
- 2) Salomon H. BACKGROUND AND HISTORICAL CONSIDERATIONS OF HELICOBACTER PYLORI. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):1-4.
- 3) Doenges JL. BACKGROUND AND HISTORICAL CONSIDERATIONS OF HELICOBACTER PYLORI. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):1-4.
- 4) Palmer ED. INVESTIGATION OF THE GASTRIC MUCOSA SPIROCHETES OF THE HUMAN. *Gastroenterology* 1954; 27:218-220.
- 5) Steer HW, Colin-Jones DG. MUCOSAL CHANGES IN GASTRIC ULCERATION AND THEIR RESPONSE TO CARBENOXOLONE SODIUM. *Gut* 1975; 16:590-597.
- 6) Marshall B, Warren JR. UNIDENTIFIED CURVED BACILLUS ON GASTRIC EPITHELIUM IN ACTIVE CHRONIC GASTRITIS. *Lancet* 1983; 1:1273-1275.
- 7) Goodwin CS, Armstrong JA. MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF HELICOBACTER PYLORI. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9:1-13.
- 8) THE HELICOBACTER GENUS: NOW WE ARE NINE (EDITORIAL). *Lancet* 1992, 339:840-841.
- 9) Bode G, Malfertheiner P, Ditschuneit H. COCID FORMS OF HELICOBACTER PYLORI ARE VIABLE (ABSTRACT). *Italian Journal of Gastroenterology* 1991; 23(Suppl):35-6.
- 10) Goodwin CS, Worsley BW. MICROBIOLOGY OF HELICOBACTER PYLORI. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):5-19.
- 11) Lee A. SPIRAL ORGANISMS: WHAT ARE THEY? A MICROBIOLOGIC INTRODUCTION TO HELICOBACTER PYLORI. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26 (Suppl) 187:9-22
- 12) Taylor DE, Hargreaves JV. DIFFERENTIATION OF HELICOBACTER PYLORI ISOLATES BY PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS OF GENOME DNA (ABSTRACT). *Microbial Ecology in Health and Disease* 4(special issue)1991;S172.
- 13) Lambert MA, Patton CM, Barrett TJ, et al. DIFFERENTIATION OF CAMPYLOBACTER AND CAMPYLOBACTER-LIKE ORGANISMS BY CELLULAR FATTY ACID COMPOSITION. *J Clin Microbiol* 1987; 25:706-713.

- 14) Secker DA, Tompkins DS, Alderson G. GAS-PERMEABLE LIFECCELL TISSUE CULTURE FLASKS GIVE IMPROVED GROWTH OF HELICOBACTER PYLORI IN A LIQUID MEDIUM. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1060-1061.
- 15) Mobley HLT, Foxall PA. HELICOBACTER PYLORI UREASE: PROPERTIES AND ROLE IN PATHOGENESIS. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26 (Suppl) 187:39-46.
- 16) Armstrong JA, Cooper M, Goodwin CS, et al. INFLUENCE OF SOLUBLE HAEMAGGLUTININS ON ADHERENCE OF HELICOBACTER PYLORI TO HEP-2 CELLS. *J Med Microbiol* 1991; 34:181-187.
- 17) Rivera E, López-Vidal Y, Luqueño V, et al. INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE ASSAY FOR DETECTION OF HELICOBACTER PYLORI IN HUMAN GASTRIC MUCOSAL BIOPSIES. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1748-1751.
- 18) Goodwin CS, Blincow ED, Warren JR. EVALUATION OF CULTURAL TECHNIQUES FOR ISOLATING CAMPYLOBACTER PYLORIDIS FROM BIOPSIES OF GASTRIC MUCOSA. *J Clin Pathol* 1985; 38:1127-1131.
- 19) Blaser MJ. HYPOTHESIS ON THE PATHOGENESIS AND NATURAL HISTORY OF HELICOBACTER PYLORI INDUCED INFLAMMATION. *Gastroenterology* 1991; 23-35.
- 20) Mégraud F. EPIDEMIOLOGY OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):73-88.
- 21) Asawa M, Kimura T, Kudo M, et al. RELATIONSHIP OF HELICOBACTER PYLORI TO SERUM PEPSINOGENS IN AN ASYMPTOMATIC JAPANESE POPULATION. *Gastroenterology* 1992; 102:760.
- 22) Pérez-Pérez GI, Dworkin BM, Chodos JE, et al. CAMPYLOBACTER PYLORI ANTIBODIES IN HUMANS. *Ann Intern Med* 1988; 109:11.
- 23) Galpin OP, Whitaker CJ, Dubiel AJ. HELICOBACTER PYLORI INFECTION AND OVERCROWDING IN CHILDHOOD. *Lancet* 1992; 339:619.
- 24) Shahi CN, Fan XJ, Chua A, et al. DEFECTIVE ANTIGEN-SPECIFIC RESPONSES IN PATIENTS WITH GASTRIC HELICOBACTER PYLORI COLONIZATION. *Gastroenterology* 1992; 102:A694.
- 25) Goodwin CS. DUODENAL ULCER, CAMPYLOBACTER PYLORI AND THE "LEAKING ROOF" CONCEPT. *Lancet* 1988; 2:1467.
- 26) Levi S, Beardshall K, Haddad G, et al. CAMPYLOBACTER PYLORI AND DUODENAL ULCERS: THE GASTRIN LINK. *Lancet* 1989; 1:1167.

- 27) Dunn BE. PATHOGENIC MECHANISMS OF HELICOBACTER PYLORI. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):43-51.
- 28) Newell DG. VIRULENCE FACTORS OF HELICOBACTER PYLORI. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26 (Suppl) 187:31-38.
- 29) Fauchere JL, Blaser MJ. ADHERENCE OF HELICOBACTER PYLORI CELLS AND THEIR SURFACE COMPONENTS TO HeLa MEMBRANES. *Microb Pathol* 199C; 9:427.
- 30) Lingwood CA, Law H, Pellizzari A, et al. GASTRIC GLYCEROLIPID AS A RECEPTOR FOR CAMPYLOBACTER PYLORI. *Lancet* 1989; 2:238.
- 31) Trust TJ, Diog P, Emody L, et al. HIGH-AFFINITY BINDING OF THE BASEMENT MEMBRANE PROTEINS COLLAGEN TYPE IV AND LAMININ TO THE GASTRIN PATHOGEN HELICOBACTER PYLORI. *Infect Immun* 1991; 59:4389.
- 32) Crabtree JE, Taylor JD, Wyatt JI, et al. MUCOSAL IgA RECOGNITION OF HELICOBACTER PYLORI 120 KDa PROTEIN, PEPTIC ULCERATION AND GASTRIC PATHOLOGY. *Lancet* 1991; 338:332.
- 33) Sarosiek J, Bilski J, Murty VLN, et al. COLLOIDAL BISMUTH SUBCITRATE (DE-NOL) INHIBITS DEGRADATION OF GASTRIC MUCUS BY CAMPYLOBACTER PYLORI PROTEASE. *Am J Gastroenterol* 1989; 84:506.
- 34) Goggin PM, Northfield TC, Spychal RT. FACTORS AFFECTING GASTRIC MUCOSAL HIDROPHOBICITY IN MAN. *Scand J Gastroenterol* 1991; Suppl 181:65.
- 35) Wyle FA, Tarnawski A, Schulman D, et al. EVIDENCE FOR GASTRIC MUCOSAL CELL INVASION BY CAMPYLOBACTER PYLORI: AN ULTRAESTRUCTURAL STUDY. *J Clin Gastroenterol* 1990; 12 (Suppl):S92.
- 36) Mooney C, Keenan J, Munster D, et al. NEUTROPHIL ACTIVATION BY HELICOBACTER PYLORI. *Gut* 1991; 32:853.
- 37) Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ. LEUKOTRIENES AND OTHER PRODUCTS OF THE 5-LIPOXYGENASE PATH WAY, *N Engl J Med* 1990; 323:645.
- 38) Dehesa M. METODOS DE DIAGNOSTICO EN INFECCION POR HELICOBACTER PYLORI. *Rev Gastroenterol Mex* 1993; 58(2):87-95.
- 40) Barthel JS, Everett ED. DIAGNOSIS OF CAMPYLOBACTER PYLORI INFECTIONS: THE "GOLD STANDARD" AND THE ALTERNATIVES. *Rev Infect Dis* 1990; 121:SI 07-SI 14.

41) Cartun RW, Pedersen CA, Krzymowski GA, et al. IMMUNOCYTOCHEMICAL DETECTION OF HELICOBACTER PYLORI IN FORMALIN FIXED TISSUE BIOPSY SPECIMENS. *J Clin Pathol* 1990; 43:518-520.

42) Van Den Berg FM, Zijlmans H, Langerberg W, et al. DETECTION OF CAMPYLOBACTER PYLORI STOMACH TISSUE BY DNA IN SITU HYBRIDATION. *J Clin Pathol* 1989; 42:995-1000.

43) Graham DY, Klein PD, Evans DJ, et al. CAMPYLOBACTER PYLORI DETECTED NONINVASIVELY BY THE 13C-UREA BREATH TEST. *Lancet* 1987; 1: 1174-1177.

44) Henze E, Malfertheiner P, Clausen M, et al. VALIDATION OF A SIMPLIFIED CARBON-14-UREA BREATH TEST FOR ROUTINE USE OF DETECTING HELICOBACTER PYLORI NONINVASIVELY. *J Nucl Med* 1990; 31: 1940-1944.

45) Marshall BJ, Plankey MW, Hoffman SR, et al. A 20-MINUTE BREATH TEST FOR HELICOBACTER PYLORI. *Am J Gastroenterol* 1991; 86:438-445.

46) Robert ME, Weinstein WM. HELICOBACTER PYLORI ASSOCIATED GASTRIC PATHOLOGY. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):59-72.

47) Wallace JL. POSSIBLE MECHANISMS AND MEDIATORS OF GASTRITIS ASSOCIATED WITH HELICOBACTER PYLORI INFECTION. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26 (Suppl) 187:65-70.

48) Rangachari JK. HELICOBACTER AND HIPERGASTRINEMIA:THE QUISSING OPTION. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26 (Suppl) 187: 85-90.

49) Graham DY. CAMPYLOBACTER PYLORI AND PEPTIC ULCER DISEASE. *Gastroenterology* 1989; 96:615-625.

50) Tytgat GNJ, Noach LA, Rauws EAJ. HELICOBACTER PYLORI INFECTION AND DUODENAL ULCER DISEASE. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):127-139

51) Sipponen P, Sappala K, Aarynen M, et al. CHRONIC GASTRITIS AND GASTRODUODENAL ULCER OR GASTRIC ULCER IN PATIENTS WITH GASTRITIS. *GUT* 1989; 30:922-929.

52) Wyatt JL, Rathbone BJ, Sobala G, et al. THE PREVALENCE AND DISTRIBUTION OF GASTRIC EPITHELIUM IN THE DUODENUM AND ITS RELATIONSHIP TO HELICOBACTER PYLORI AND INFLAMMATION. *J Clin Pathol* 1990; 43:981-986.

53) Johnston BJ, Reed PI, Alimm H. CAMPYLOBACTER-LIKE ORGANISMS IN DUODENAL AND ANTRAL ENDOSCOPIC BIOPSIES: RELATIONSHIP TO INFLAMMATION. *GUT* 1986; 27:1132-1137.

54) Graham DY, Opekun A, Lew GM, et al. ABLATION OF EXAGGERATED MEAL-STIMULATED GASTRIN RELEASE IN DUODENAL ULCER PATIENTS AFTER CLEARANCE OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION. *Am J Gastroenterol* 1990;95:394.

55) Rauws EAJ, Langerberg W, Houthoff, et al. CAMPYLOBACTER PYLORIDIS ASSOCIATED CHRONIC ANTRAL GASTRITIS A PROSPECTIVE STUDY OF ITS PREVALENCE AND THE EFFECTS OF ANTIBACTERIAL AND ANTI-ULCER TREATMENT. *Gastroenterology* 1988; 94:33-40.

56) Dwyer B, Kaldur J, Tee W, et al. ANTIBODY RESPONSE TO CAMPYLOBACTER PYLORI IN DIVERSE ETHNIC GROUPS. *Scand J Infect Dis* 1988; 20:349.

57) Parsonnet J, Blaser MJ, Pérez-Pérez GI, et al. SYMPTOMS AND RISK FACTORS HELICOBACTER PYLORI INFECTION ON A COHORT OF EPIDEMIOLOGISTS. *Gastroenterology* 1992; 102: 41.

58) Loffeld RJJF, Wyllems I, Flendrig JA, et al. HELICOBACTER PYLORI AND GASTRIC CARCINOMA. *Histopathology* 1990; 17:537.

59) Nomura AMY, Stemmermann GN, Chyou P, et al. HELICOBACTER PYLORI INFECTION AND GASTRIC CANCER IN A POPULATION OF JAPANESE-AMERICANS IN HAWAII. *N Engl J Med* 1991; 325:1132.

60) Parsonnet J. HELICOBACTER PYLORI AND GASTRIC CANCER. *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1): 89-104.

61) Gordon EM, Johnson AG, Williams G. GASTRIC ASSESMENT OF PROSPECTIVE RENAL TRANSPLANT PATIENTS. *Lancet* 1972; 29:226-9.

62) Shepperd AMM, Stewart WF, Wormsley KG. PEPTIC ULCERATION IN CHRONIC RENAL FAILURE. *Lancet* 1973; 1:1357-9.

63) Dorph S, Digaard A, Pedersen G. GASTRODUODENAL MUCOSAL CHANGES IN CHRONIC UREMIA. *Scand J Gastroenterol* 1972; 7:589-93.

64) Dekkers CPM, Endeman MJ, Poen M. UPPER GASTROINTESTINAL COMPLICATIONS AND GASTRIC ACID STUDIES IN ADVANCED RENAL INSUFFICIENCY (ABSTRACT).

- 65) Ventkateswaran PS, Jeffers A, Hocken AG. GASTRIC ACID SECRETION IN CHRONIC RENAL FAILURE. *Br J Med* 1972; 4:22-3.
- 66) Salera M, Biasco G, Di Febo G. FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS OF THE STOMACH AND DUODENUM IN CHRONIC RENAL FAILURE. *Gastroenterol* 1977, 9:63-4.
- 67) Musola R, Franzin G, Mora R. PREVALENCE OF GASTRODUODENAL LESIONS IN UREMIC PATIENTS UNDERGOING DIALYSIS AND AFTER RENAL TRANSPLANTATION *Gastrointestinal endoscopy* 1984, 30(6): 343-6.
- 68) Ala-Kaila K, Vaajalahti P, Karvonen AL. GASTRIC HELICOBACTER AND UPPER GASTROINTESTINAL SYMPTOMS IN CHRONIC RENAL FAILURE. *Ann of Med* 1991, 23:403-6.
- 69) Shousha, Arnaout AH, Abbas SH. ANTRAL HELICOBACTER PYLORI IN PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE. *J Clin Pathol* 1990; 43:397-9.
- 70) Wee A, Kang JY, Choong HL. GASTRODUODENAL MUCOSA IN URAEMIA: ENDOSCOPIC AND HISTOLOGICAL CORRELATION AND PREVALENCE OF HELICOBACTER-LIKE ORGANISMS. *GUT* 1990; 31:1093-6
- 71) Conz P, Feriani M, Milan M. CAMPYLOBACTER PYLORI INFECTION IN UREMIC DIALYZED PATIENTS. *Nephron* 1990; 55:442-3.
- 73) Marañón SM, Ocaña E, Díaz M FRECUENCIA DE CAMPYLOBACTER PYLORI EN UNA POBLACION NO SELECCIONADA DE PACIENTES REFERIDOS A ENDOSCOPIA. *Endoscopia* 1989; 1(1):24-33.
- 75) Oderda G, Vaira D, Holton J, et al. AMOXYCILLIN PLUS TINIDAZOLE FOR CAMPYLOBACTER PYLORI GASTRITIS IN CHILDREN ASSESSMENT BY SERUM IgG ANTIBODY, PEPSINOGEN I AND GASTRIN LEVELS. *Lancet* 1989; 1:690-2
- 76) Marshall BJ. TREATMENT STRATEGIES FOR HELICOBACTER PYLORI INFECTION *Gastroenterol Clin of North Am* 1993; 22(1):183-198.
- 77) Goodwin CS, Marshall BJ, Blincow ED, et al. PREVENTION OF NITROIMIDAZOLE RESISTANCE IN CAMPYLOBACTER PYLORI BY CO-ADMINISTRATION OF COLLOIDAL BISMUTH SUBCITRATE: CLINICAL AND IN VITRO STUDIES. *J Clin Pathol* 1988;41:207-210.
- 78) Borody TJ, Brandl S, Andrews P, et al. H. PYLORI ERADICATION FAILURE (EF)- FURTHER TREATMENT POSSIBILITIES. *GASTROENTEROLOGY* 1992;4102:A38