



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"

ASOCIACIÓN ENTRE EL GRADO DE INFLAMACIÓN EN BIOPSIAS GÁSTRICAS POSITIVAS A *HELICOBACTER PYLORI* Y LA PRESENCIA DE SUS GENES DE VIRULENCIA *cagA* Y *vacA* IDENTIFICADOS POR PCR.

TESIS:
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:
DRA. VIRIDIANA ESPINOSA MARTÍNEZ

ASESOR:
DRA. SARA PARRAGUIRRE MARTÍNEZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
DRA. LUZ ELENA ESPINOSA DE LOS MONTEROS
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

CIUDAD DE MÉXICO FEBRERO 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

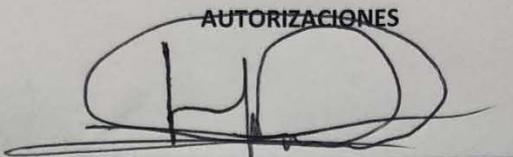
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

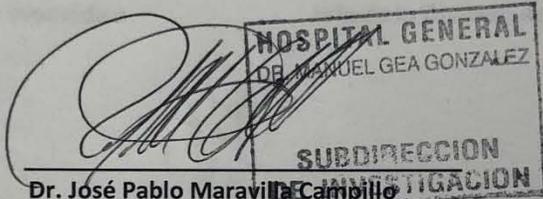
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"

AUTORIZACIONES

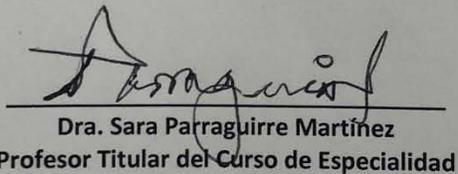


Dr. Héctor Manuel Prado Calleros
Director de Enseñanza e Investigación

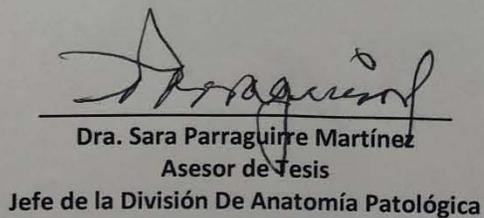


HOSPITAL GENERAL
DR. MANUEL GEA GONZALEZ
SUBDIRECCION
DE INVESTIGACION

Dr. José Pablo Maravilla Campillo
Subdirector de Investigación Biomédica

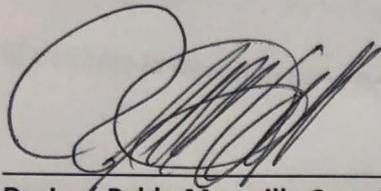


Dra. Sara Parraguirre Martínez
Profesor Titular del Curso de Especialidad

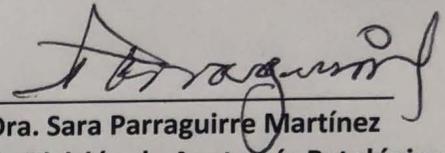


Dra. Sara Parraguirre Martínez
Asesor de Tesis
Jefe de la División De Anatomía Patológica

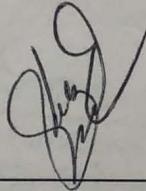
Este trabajo de tesis con número de registro: **01-46-2019** presentado por la alumna Viridiana Espinosa Martínez y se presenta en forma con visto bueno por el tutor principal de la tesis **DRA. SARA PARRAGUIRRE MARTÍNEZ Y DRA. LUZ ELENA ESPINOSA DE LOS MONTEROS** con fecha del 06 de Agosto del 2019 para su impresión final.



Dr. José Pablo Maravilla Campillo
Subdirector de Investigación Biomédica



Dra. Sara Parraguirre Martínez
Jefa de la División de Anatomía Patológica

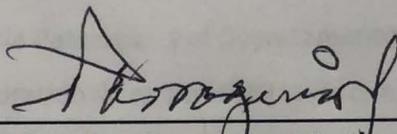


Dra. Luz Elena Espinosa de los Monteros
Jefa del Departamento de Investigación en Microbiología

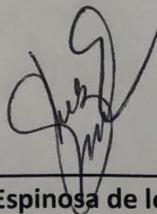
"Asociación entre el grado de inflamación en biopsias gástricas positivas a *Helicobacter pylori* y la presencia de sus genes de virulencia *cagA* y *vacA* identificados por PCR".

Este trabajo fue realizado en el Hospital General "Dr. Manuel Gea González" en la División de Anatomía Patológica bajo la dirección de la Dra. Sara Parraguirre Martínez.

COLABORADORES:



**Dra. Sara Parraguirre Martínez
Investigador Principal**



**Dra. Luz Elena Espinosa de los Monteros
Investigador Principal**



**Dra. Viridiana Espinosa Martínez
Investigador Asociado Principal**

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la División de Anatomía Patológica y al Departamento de Investigación en Microbiología por su apoyo y colaboración para la elaboración de esta investigación que a largo plazo benefician a los pacientes y médicos para el aprendizaje y crecimiento profesional.

ÍNDICE

I.- RESUMEN.....	1
II.- INTRODUCCIÓN.....	2
III.- MATERIAL Y METODOS.....	5
IV.- RESULTADOS.....	6
V.- DISCUSIÓN.....	6
VI.- BIBLIOGRAFÍA.....	8
VII.- TABLAS.....	10

i. Resumen

Introducción: La infección por *H. pylori* en la mucosa gástrica conlleva al desarrollo de gastritis crónica, con grados variables de inflamación, debido a esto se han estudiado los hallazgos histopatológicos y la presencia de los genes de virulencia más importantes de *H. pylori*, *cagA* y *vacA* mediante la aplicación de PCR, porque el primero se asocia con gastritis crónica, actividad severa por neutrófilos, úlcera gástrica y cáncer gástrico, y *vacA* con la afectación de la mucosa gástrica principalmente por aumento de la cantidad de inflamación aguda, por lo cual se realiza el estudio para evaluar la población de esta institución.

Material y Métodos: Se realizó un estudio observacional, analítico (de asociación), ambispectivo y transversal, que se autorizó y que está en el dictamen CEI-307-2019 con número de registro 01-46-2016. Se seleccionaron las biopsias de mucosa gástrica con gastritis crónica positivas a *Helicobacter pylori* por estudio histopatológico con bloque de parafina y tejido suficiente para realización de PCR e identificar la presencia de los genes *vacA* y *cagA*. Y se realizó prueba de Chi cuadrada para el estudio de asociación de variables.

Resultados: Se analizaron 53 casos, correspondientes a 36 mujeres y 17 hombres, de los cuales el 9.4 % de las biopsias estudiadas tenían inflamación ausente a leve y el 90.6 % inflamación moderada a severa. Al análisis por PCR se obtuvo que el 69.8% *cagA* y *vagA* fueron negativos, el 18.9 % *cagA*+/*vagA*+, 5.7% de *cagA*+/*vagA*- y 5.7% *cagA*-/*vagA*+. De los casos *cagA* y *vagA* negativos, 32 presentaban inflamación moderada a severa y 5 inflamación ausente a leve, los 6 casos *cagA*+/*vagA*- y *cagA*-/*vagA*+ tenían inflamación moderada a severa

Discusión: En el periodo de análisis se recibieron 781 biopsias gástricas en el servicio de Patología, en las cuales se identificó *H.pylori* en 101 por estudio histopatológico, que corresponden al 12%, de las muestras con diagnóstico de gastritis crónica con actividad moderada a severa. En este estudio se logró la detección de los genes *vacA/cagA* de *H.pylori*, a partir de cortes histológicos, en el 10% de los cortes analizados. No fue posible establecer una relación entre el grado de inflamación y la presencia de los genes *vacA/cagA*.

Palabras clave: inflamación; *H. pylori*; *cagA*; *vacA*.

II.- Introducción.

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria gram negativa, microaerófila, en forma de espiral que infecta la mucosa gástrica en humanos y posee factores de virulencia que lo ayudan al desarrollo de la infección y enfermedad. James K. Y. Hooi y cols. reportaron que la prevalencia de *H. pylori* es mayor en África (79.1%), Latino América y el Caribe (63.4%), Asia (54.7%), a diferencia de países desarrollados como Norteamérica (37.1%), Europa Occidental (34.3%) y Oceanía (24.4%), estimándose en el 2015 a nivel mundial 4.4 billones de habitantes con infección por *H. pylori*, principalmente en países en vías de desarrollo, comunidades en condiciones socioeconómicas pobres y recientemente industrializados (1).

En México la infección por *H. pylori* ha sido evaluada con métodos serológicos, siendo elevada y variable de acuerdo a las condiciones sanitarias de la población; la seropositividad para *H. pylori* se presenta desde el año de edad (20%), incrementándose en la primera década de la vida (50%) a más del 80% en los adultos (2). Y está relacionado con el desarrollo de gastritis, úlcera péptica, neoplasias malignas como carcinoma, linfoma (3,4), y la Organización Mundial de la Salud lo clasifica como carcinógeno del grupo 1 (5).

La infección por *H.pylori* se asocia a síntomas gástricos principalmente náusea, halitosis, dispepsia, vómito; los hallazgos histológicos identificados corresponden a gastritis severa con infiltrado inflamatorio crónico caracterizado por la presencia de linfocitos y abundantes neutrófilos, disminución de la secreción de moco en las glándulas, atrofia glandular, formación de úlceras y sus complicaciones (hemorragia y/o perforación), adenocarcinoma gástrico y linfoma del tejido linfoide asociado a mucosas (6).

H. pylori tiene múltiples factores de virulencia de los cuales destacan la actividad de la ureasa que le ayuda a resistir el medio ácido gástrico, inhibir la fagocitosis que le permite la supervivencia en los macrófagos (7). El flagelo es un factor importante de virulencia para la motilidad a través del epitelio gástrico y se asocia a mayor daño a la mucosa por la inflamación que provoca (8). *H. pylori* tiene moléculas de adhesión que le ayudan a la interacción con el epitelio superficial de la mucosa gástrica para su adaptación, como la proteína A activadora de neutrófilos (NAP), proteína de choque térmico 60 (Hsp60), y moléculas de unión al antígeno del grupo sanguíneo (*BabA* y *BabB*), entre otras. La proteína A activadora de neutrófilos (NAP) se relaciona con la gastritis crónica, presencia de neutrófilos y células mononucleares en la mucosa gástrica. La proteína de choque térmico 60 (*Hsp60*), induce la producción de interleucinas inflamatorias, que se relacionan con la

infección y riesgo de progresión a gastritis o cáncer gástrico (9,10). Las moléculas de unión al antígeno del grupo sanguíneo, especialmente del grupo O, ayudan a que se una al epitelio gástrico favoreciéndose la inflamación por neutrófilos, secreción de interleucinas y desarrollo de gastritis crónica y enfermedad por úlcera péptica (10, 11).

Los factores de virulencia más importantes de *H. pylori*, son las citotoxinas asociadas al gen A (*cagA*) y la vacuolizante (*vacA*). La primera es una oncoproteína que ayuda a la adherencia al epitelio gástrico para activar vías de inflamación en la mucosa gástrica causando muerte celular. El gen *vacA* es una proteína y toxina bacteriana, que induce la vacuolización del epitelio gástrico que genera necrosis y muerte celular por la liberación de sustancias inflamatorias, además inhibe la regeneración de la mucosa gástrica, promoviendo la inflamación crónica por linfocitos y aguda con neutrófilos, así como el desarrollo de úlcera péptica y cáncer gástrico (10,12,13).

Se han realizado estudios para identificar los genes de virulencia, y en las cepas de occidente el 60% son *cagA* positivas, este gen se asocia con el desarrollo de gastritis severa, gastritis con atrofia y cáncer gástrico, debido a que induce la producción de sustancias inflamatorias, especialmente interleucinas, que aumentan la cantidad y respuesta de los neutrófilos. Por otro lado, el gen *vacA* se encuentra en todas las cepas de *H. pylori*, y de acuerdo al subtipo genético que presenta será la respuesta de las sustancias inflamatorias (citocinas) en la mucosa gástrica, produciendo inflamación crónica, hemorragia, úlceras pépticas principalmente y un riesgo elevado de carcinogénesis (14). Ambos genes de virulencia (*cagA* y *vacA*) interactúan en el proceso de inflamación, *cagA* detiene la regeneración de la mucosa gástrica y *vacA* disminuye la respuesta inmune y adaptativa del huésped contra *H. pylori* (15).

El gen *cagA* se ha detectado principalmente en las biopsias con úlcera péptica y cáncer gástrico, principalmente por su asociación con la progresión de la inflamación crónica que será el inicio del daño a la mucosa gástrica, activación de múltiples vías proinflamatorias que con el tiempo lesionan el epitelio gástrico, rompen las uniones entre las células, liberan sustancias que ayudan a mantener el proceso inflamatorio crónico y agudo por linfocitos y neutrófilos respectivamente, que posteriormente ulceran la mucosa gástrica y activan factores de necrosis epiteliales, factores tumorales alterados como el p53 y activación de vías alteradas que promueven la diferenciación de la mucosa gástrica inflamada y desarrollo de cáncer gástrico

(16, 17). El gen *vacA* está presente en todos los *H. pylori* y de acuerdo al alelo que expresa induce la vacuolización del epitelio gástrico, y forma canales hacia el citoplasma de la célula actuando a nivel mitocondrial para liberar sustancias inflamatorias y toxinas. Ambos genes al ser positivos en la bacteria se han asociado a mayor virulencia, mayor daño de la mucosa gástrica y severidad de enfermedades gástricas (17).

El diagnóstico de *H. pylori* se puede realizar por medio de pruebas no invasivas como serología, test de ureasa por aliento, antígeno en heces y pruebas invasivas como el cultivo, estudio histológico y test rápido de urea por endoscopia. El estudio histológico utiliza el sistema de clasificación y gradificación de gastritis llamado Sistema de Sydney, enfatizando la importancia de parámetros específicos tanto topográficos, morfológicos y etiológicos que ayudan al diagnóstico y posterior tratamiento. Este sistema engloba características histológicas con la finalidad de tener un lenguaje estandarizado y entendible para el reporte histopatológico, con el cual se califica la presencia de inflamación crónica, inflamación aguda por neutrófilos (actividad), atrofia y metaplasia intestinal; así mismo, sugieren realizar tinciones especiales para el diagnóstico de *H. pylori*. Las tinciones auxiliares para el estudio histopatológico son Giemsa, Warthin-Starry, azul de toluidina, Genta e inmunohistoquímica, que nos permiten la identificación de la bacteria y su diferenciación de otros microorganismos; principalmente en casos de gastritis crónica activa por la presencia de neutrófilos, y se ha detectado su relación con infección por *H. pylori* hasta el 75%. (18-20).

La biopsia es la mejor prueba para el diagnóstico, sin embargo tiene algunos inconvenientes como son el alto costo, habilidades del endoscopista para la toma de biopsia, variabilidad interobservador en el diagnóstico y antecedente de uso prolongado de inhibidores de bomba de protones o antibióticos (21). Por lo que el uso de otras alternativas diagnósticas son necesarias, como la amplificación por PCR para identificación de *H. pylori* a través de los genes *16S rRNA*, *23S rRNA* y *Hsp60* (proteína de choque térmico) o bien de genes de virulencia como *ureA* y *ureC*, *vag A*, *cag A* (22).

I.A PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿Existe asociación entre el grado de inflamación en biopsias gástricas positivas a *H. pylori* y la presencia de sus genes de virulencia *cagA* y *vacA* identificados por PCR?.

I.B OBJETIVO.

Conocer la asociación que existe entre el grado de inflamación en biopsias gástricas positivas a *H. pylori* y la presencia de sus genes de virulencia *cagA* y *vacA* identificados por PCR.

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se realizó un estudio un estudio observacional, analítico (de asociación), ambispectivo y transversal. En el cual se revisaron las libretas del registro de biopsias de la División de Anatomía Patológica del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” del 1° de enero del 2017 al 31 de diciembre del 2018, se seleccionaron las biopsias gástricas con diagnóstico de gastritis activa e infección por *Helicobacter pylori* identificado por Warthin-Starry que contaban con bloque de parafina correspondiente.

Se buscaron los bloques correspondientes, se excluyeron aquellas sin material suficiente, y se hicieron cortes a 8 micras para el proceso de PCR en el Departamento de Investigación en Microbiología, donde se les realizó lo siguiente:

Análisis Molecular.

1.- Extracción de DNA: Extracción de DNA para los cortes de biopsia previamente desparafinados con kit comercial siguiendo las indicaciones del proveedor. Se congeló el DNA a -40°C hasta su uso.

2.- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Para confirmar la identidad de *Helicobacter pylori* se realizó PCR para genes *glmM* y *ureA*. En las muestras en las que se amplificaron dichos genes, se procedió a identificar los genes que codifican los factores de virulencia *cagA* y *vacA* de *H. pylori*. Cinco µl de los productos de la PCR se observaron en un gel de agarosa al 3% con bromuro de etidio al 1% a 80 V durante 40 min en una cámara electroforesis, las bandas se visualizaron bajo transiluminación UV con un fotodocumentador. En cada ensayo se incluyó la cepa control de *H. pylori* ATCC® 26695.

Se hizo uso de medidas de tendencia central para las variables cuantitativas y cálculo de frecuencias y proporciones para las variables cualitativas. Posteriormente se realizó el cálculo de razón de momios para la asociación entre el grado de inflamación y la presencia de los genes de virulencia, con un intervalo de confianza (IC) del 95% para finalmente emplear Chi cuadrada para la hipótesis planteada con ayuda de IBM SPSS Statistics.

VI. RESULTADOS.

Se analizaron 53 casos, correspondientes a 36 mujeres y 17 hombres (tabla 1), en la tabla 2 se describen los datos histológicos relacionados a inflamación, de los casos incluidos, de los cuales el 9.4 % de las biopsias estudiadas tenían inflamación ausente a leve y el 90.6 % inflamación moderada a severa.

Al análisis por PCR se obtuvo que el 69.8% *cagA* y *vagA* fueron negativos, el 18.9 % *cagA+*/*vagA+*, 5.7% de *cagA+*/*vagA-* y 5.7% *cagA-*/*vagA+*. De los casos *cagA* y *vagA* negativos, 32 presentaban inflamación moderada a severa y 5 inflamación ausente a leve, los 6 casos *cagA+*/*vagA-* y *cagA-*/*vagA+* tenían inflamación moderada a severa (tabla 3). La tabla 4 contiene desglosada por muestra analizada, las variables estudiadas.

Otros de los hallazgos encontrados en las biopsias fueron: gastritis folicular en nueve casos y 4 casos con metaplasia intestinal completa de predominio en los casos con inflamación crónica activa de moderada a severa (Tabla 5). Al realizar prueba de Chi cuadrada de (prueba de asociación para variables cualitativas) se obtuvo un valor de 2.387 con significación asintótica (bilateral) de 0.496. (Tabla 6)

V. DISCUSIÓN.

La infección por *H. pylori* induce inflamación gástrica en diferentes etapas y es un carcinogénico del grupo I, aproximadamente el 89% del cáncer gástrico se ha asociado a infección crónica por *H. pylori* por lo que es importante la detección oportuna y tratamiento. En México, para el 2013 el cáncer gástrico ocupó el tercer lugar como causa de muerte en pacientes mayores de 20 años, con una disminución de la tasa de mortalidad por el tratamiento oportuno de la infección por *H. pylori*. La infección por *H. pylori* en la mucosa gástrica desarrolla gastritis crónica, con grados variables de inflamación aguda, metaplasia intestinal y atrofia, por lo que se han estudiado los hallazgos histopatológicos y la asociación con la presencia de los genes de virulencia más importantes de *H. pylori*, *cagA* y *vacA* identificados por PCR.

De acuerdo a los hallazgos encontrados en nuestro estudio no encontramos evidencia estadísticamente significativa para la hipótesis planteada donde a mayor grado de inflamación en biopsias gástricas, hay mayor asociación con la presencia de genes de virulencia de *H. pylori* (*cagA* y *vacA*).

Estos resultados guardan relación con lo que sostienen Ramos y cols. (23) donde las muestras que presentaron el gen de virulencia *cagA* positivo se relacionaron con úlcera gástrica, como en nuestros casos donde el 100% de los casos tenían inflamación crónica activa de moderada a severa.

A diferencia de lo reportado por Martel y cols.(24) el 47.5% de sus casos fueron *vacA/cagA* positivos, obteniéndose en este estudio únicamente un 10% de los casos para ambos genes positivos, de igual manera asociándose a inflamación crónica activa moderada a severa como en nuestros casos, sin embargo en el estudio de Martel se analizaron 7 biopsias de diferente zona, en nuestro estudio solo se analizó un muestra de biopsia gástrica.

Almeida y cols, (25) en un estudio similar, obtuvieron que la mayoría de sus casos estudiados presentaban los genes *vacA/cagA* positivos, los cuales se asociaron a mayor densidad de *H. pylori*, inflamación crónica e inflamación aguda (neutrófilos), como en nuestro estudio donde otros hallazgos encontrados en las biopsias gástricas positivas al gen *cagA*, fue la presencia de gastritis folicular en 3 casos y la actividad moderada a severa.

En el periodo de análisis se recibieron 781 biopsias gástricas en el servicio de Patología, en las cuales se identificó *H.pylori* en 101 por estudio histopatológico, que corresponden al 12%, de las muestras con diagnóstico de gastritis crónica con actividad moderada a severa. Se logró la detección de los genes *vacA/cagA* de *H.pylori*, a partir de cortes histológicos, en el 10% de los cortes analizados hasta el momento. No fue posible establecer una relación entre el grado de inflamación y la presencia de los genes *vacA/cagA*.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*. 2017;153(2):420-429.
2. Torres J, Leal-Herrera Y, Perez-Perez G, Gomez A, Camorlinga-Ponce M, Cedillo-Rivera R et al. A Community-Based Seroepidemiologic Study of *Helicobacter pylori* Infection in Mexico. *J Infect Dis*. 1998; Oct;178(4):1089-1094.
3. Marshall B, Warren J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet*. 1984;323(8390):1311-15.
4. Pajares J, Gisbert J. *Helicobacter pylori* its discovery and relevance for medicine. *Rev Esp Enferm Dig*. 2006; Oct;98(10):770-85.
5. Guarner J, Mohar A. La asociación entre *Helicobacter pylori* y neoplasias gástricas. Evidencia epidemiológica. *Rev Gastroenterol Mex*. 2000;65(4 Supp 2):20-24.
6. White JR, Winter JA, Robinson K. Differential inflammatory response to *Helicobacter pylori* infection: etiology and clinical outcomes. *J Inflamm Res*. 2015;8:137–147.
7. Schwartz JT, Allen LA. Role of urease in megasome formation and *Helicobacter pylori* survival in macrophages. *J Leukoc Biol*. 2006 Jun;79(6):1214-25.
8. Cheng-Yen K, Bor-Shyang S, Shew-Meei S, Hsiao-Bai Y, Wei-Lun C, Hsiu-Chi C, et al. Higher Motility Enhances Bacterial Density and Inflammatory Response in Dyspeptic Patients Infected with *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2012;17(6):411–416.
9. Lin CS, He PJ, Tsai NM, Li CH, Yang SC, Hsu WT, et al. A potential role for heat shock protein 60 in gastric tumorigenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;392(2):183–189.
10. Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomed J*. 2016;39(1):14–23.
11. Chen MY, He CY, Meng X, Yuan Y. Association of *Helicobacter pylori babA2* with peptic ulcer disease and gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2013;19(26):4242–4251.
12. Radin JN, González-Rivera C, Ivie SE, McClain MS, Cover TL. *Helicobacter pylori VacA* induces programmed necrosis in gastric epithelial cells. *Infect Immun*. 2011;Jul;79(7):2535-43.
13. Ding SZ, Zheng PY. *Helicobacter pylori* infection induced gastric cancer; Advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut Pathog*. 2012;4(1):18-28.
14. Peek RM, Crabtree JE. *Helicobacter* infection and gastric neoplasia. *J Pathol*. 2006; 208(2):233–248.

15. Oldani A, Cormont M, Hofman V, Chiozzi V, Oregioni O, Canonici A, et al. *Helicobacter pylori* Counteracts the Apoptotic Action of Its *VacA* Toxin by Injecting the *CagA* Protein into Gastric Epithelial Cells. *PLoS Pathog.* 2009;5(10): 1-15.
16. Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett.* 2014;345(2):196-202.
17. Roesler BM, Rabelo-Gonçalves EM, Zeitune JM. Virulence factors of *Helicobacter pylori*: A review. *Clin Med Insights Gastroenterol.* 2014;7:9–17.
18. Batts KP, Ketover S, Kakar S, Krasinskas AM, Mitchell KA, Wilcox R, et al. Appropriate use of special stains for identifying *Helicobacter pylori*: Recommendations from the Rodger C. Haggitt Gastrointestinal Pathology Society. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(11):12–22.
19. Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, Wu MC, Shih HY, Wang SS, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and developments. *World J Gastroenterol.* 2015;21(40):11221-11235.
20. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and Grading of Gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20(10):1161-1181.
21. Lee JY, Kim N. Diagnosis of *Helicobacter pylori* by invasive test: histology. *Ann Transl Med.* 2015;3(1):10.
22. Thoreson AC, Borre M, Andersen LP, Jørgensen F, Kiilerich S, Scheibel J, et al. *Helicobacter pylori* detection in human biopsies: A competitive PCR assay with internal control reveals false results. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1999;24(2):201-208.
23. Leite KR, Darini E, Canavez FC, Carvalho CM, Mitteldorf CA, Camara-Lopes LH. *Helicobacter pylori* and *cagA* gene detected by polymerase chain reaction in gastric biopsies: correlation with histological findings, proliferation and apoptosis. *Sao Paulo Med J.* 2005. 123(3), 113-118.
24. de Martel C, Plummer M, van Doorn LJ, Vivas J, Lopez G, Carillo E, et al. Comparison of polymerase chain reaction and histopathology for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *Int J Cancer.* 2010;126(8):1992–1996.
25. Almeida N, Donato MM, Romãozinho JM et al. Correlation of *Helicobacter pylori* Genotypes with Gastric Histopathology in the Central Region of a South-European Country. *Dig Dis Sci.* 2015; 60(1):74–85.

VII. TABLAS.

		Sexo			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	Mujer	36	67.9	67.9	67.9
	Hombre	17	32.1	32.1	100.0
	Total	53	100.0	100.0	

Tabla 1.- Análisis de la variable sexo, de los pacientes con bloques de biopsia Gástrica incluidos en el estudio.

		Inflamación crónica activa			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	ausente-leve	5	9.4	9.4	9.4
	moderada-severa	48	90.6	90.6	100.0
	Total	53	100.0	100.0	

Tabla 2.- Análisis de la Inflamación crónica activa, de los bloques de biopsia Gástrica incluidos en el estudio.

		Gen de virulencia por PCR			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	<i>cagA+</i> <i>vagA+</i>	10	18.9	18.9	18.9
	<i>cagA-</i> <i>vagA-</i>	37	69.8	69.8	88.7
	<i>cagA+</i> <i>vagA-</i>	3	5.7	5.7	94.3
	<i>cagA-</i> <i>vagA+</i>	3	5.7	5.7	100.0
	Total	53	100.0	100.0	

Tabla 3.- Análisis de la presencia de los genes *cagA+* *vagA+* de *H.pylori* identificados en los bloques de biopsia gástrica incluidos en este estudio.

Tabla 4.- Características Generales de los bloques de biopsia gástrica analizados, así como las variables estudiadas.

Recolección de datos.								
	EDAD	SEXO	INFLAMACIÓN CRÓNICA ACTIVA		GEN DE VIRULENCIA			
			AUSENTE - LEVE	MODERADA- SEVERA	cagA+ vagA+	cagA- vagA-	cagA+ vagA-	cag A - vagA+
1	43	F		X				X
2	71	F		X		X		
3	81	F		X		X		
4	52	F		X	X			
5	81	F		X		X		
6	32	M		X		X		
7	46	M		X	X			
8	38	M		X		X		
9	18	F		X		X		
10	41	F	X			X		
11	45	F		X		X		
12	44	F		X	X			
13	78	F		X		X		
14	56	F		X		X		
15	37	F		X	X			
16	34	F		X				X
17	45	F		X		X		
18	32	M		X	X			
19	47	F		X	X			
20	36	M		X		X		
21	48	M		X		X		
22	45	F		X		X		
23	50	F		X		X		
24	58	F		X	X			
25	25	M		X		X		
26	48	F		X		X		
27	45	F		X				X
28	54	F		X	X			
29	33	F		X	X			
30	26	M	X			X		
31	74	F		X			X	
32	76	F		X			X	
33	55	F		X		X		

34	34	F		X	X			
35	36	M		X			X	
36	64	F		X		X		
37	75	M		X		X		
38	35	F		X		X		
39	74	F		X		X		
40	30	F		X		X		
41	77	M	X			X		
42	31	F		X		X		
43	42	F		X		X		
44	84	M	X			X		
45	76	F	X			X		
46	63	F		X		X		
47	37	F		X		X		
48	80	M		X		X		
49	24	M		X		X		
50	56	M		X		X		
51	81	M		X		X		
52	37	M		X		X		
53	53	F		X		X		
Fuente: Recolección de datos.								

Tabla 5.- Hallazgos relacionados a inflamación, observada histológicamente de los bloques de biopsia gástrica analizados.

Tabla 2. Otros hallazgos histológicos.						
No. Caso	EDAD	SEXO	INFLAMACIÓN CRÓNICA ACTIVA		Otros hallazgos	
			AUSENTE - LEVE	MODERADA-SEVERA	Metaplasia intestinal	Tipo especial de gastritis
1	43	F		1	COMPLETA	
7	46	M		1		FOLICULAR
8	38	M		1		FOLICULAR
9	18	F		1		FOLICULAR
10	41	F	1			FOLICULAR
15	37	F		1	COMPLETA	
16	34	F		1		FOLICULAR
19	47	F		1		FOLICULAR
23	50	F		1	COMPLETA	
31	74	F		1	COMPLETA	
36	64	F		1		FOLICULAR
38	35	F		1		FOLICULAR
49	24	M		1		FOLICULAR

Tabla 6.- Resultado del análisis estadístico, de las variables analizadas

A las muestras de biopsia gástrica analizadas (n=53).

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2.387 ^a	3	.496
Razón de verosimilitud	3.815	3	.282
N de casos válidos	53		

a. 6 casillas (75.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es .28.