

Relación entre la integridad del *CagPAI* y los polimorfismos en el gen *CagA* con la severidad de la gastritis en pacientes infectados con *H. pylori CagA* positivo

The Relation between *CagPAI* Integrity and the Polymorphisms in the *CagA* Gene with the Severity of Gastritis in Patients Infected With *CagA*-Positive *H. pylori*

María M. Bravo¹, Teresa Martínez², Juan C. Bravo³

1. Grupo de Investigación en Cáncer y Agentes Infecciosos, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D. C., Colombia
2. Grupo Investigación Epidemiológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D. C., Colombia
3. Departamento de Patología, Fundación Valle del Lili, Santiago de Cali, Valle, Colombia

Resumen

Objetivos: Evaluar la histopatología gástrica en pacientes colombianos con gastritis infectados con *Helicobacter pylori CagA*-positivo y su asociación a la integridad del islote de patogenicidad Cag (*CagPAI*) y el número de motivos EPIYA-C presentes en la proteína CagA. **Métodos:** Se incluyó a 31 individuos con diagnóstico de gastritis. A partir de biopsias gástricas se aisló *H. pylori CagA*-positivo y se caracterizó, mediante secuencia, la composición de motivos EPIYA. La histopatología fue evaluada según el sistema Sidney actualizado. Los genes *CagA*, *CagT*, *CagE* y *Cag10* fueron genotipificados mediante PCR y electroforesis en agarosa. **Resultados:** En total, 24 aislamientos (el 77% de los casos) portaban *CagPAI* íntegro. De los aislamientos negativos para uno o más genes del *CagPAI*, 7 de ellos (22%) fueron considerados como portadores de un *CagPAI* defectuoso. No se observaron diferencias significativas en los promedios de densidad de *H. pylori*, el grado de inflamación crónica ni la presencia de atrofia glandular o de metaplasia intestinal entre aislamientos con el *CagPAI* íntegro, en comparación con aislamientos con el *CagPAI* defectuoso. Tampoco se observaron diferencias significativas en los parámetros histopatológicos entre los aislamientos con un motivo EPIYA-C o más de un motivo EPIYA-C, ni en antro ni en cuerpo, excepto para la infiltración por neutrófilos, que fue significativamente mayor en cuerpo en aislamientos con más de un motivo EPIYA-C ($p=0,018$). **Conclusiones:** No se halló asociación entre la diversidad en los factores de virulencia *CagPAI* y *CagA* de aislamientos colombianos, y los hallazgos histopatológicos en la gastritis, otros factores del hospedero o ambientales podrían afectar las características histopatológicas de la gastritis.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, gastritis, factores de virulencia, polimorfismo genético

Correspondencia

María Mercedes Bravo, Instituto Nacional de Cancerología, Avenida 1ª No. 9-85, Bogotá, D. C., Colombia. Teléfono (571) 334 1111 Ext. 4220. Correo electrónico: mbravo@cancer.gov.co

Fecha de recepción: 23 de febrero de 2012. Fecha de aprobación: 29 de mayo de 2012.

Abstract

Objectives: To evaluate gastric histopathology in Colombian patients infected with *CagA*-positive *Helicobacter pylori* and its association with the integrity of *Cag* (*CagPAI*) pathogenicity island and the number of EPIYA-C motifs present in the *CagA* protein. **Methods:** Thirty-one (31) individuals diagnosed with gastritis were included in the study. Using gastric biopsies, *CagA*-positive *H. pylori* was isolated and EPIYA motif makeup was characterized by sequencing. Histopathology was evaluated with updated Sydney system. The *CagA*, *CagT*, *CagE* and *Cag10* genes were genotyped using PCR and agarose electrophoresis. **Results:** A total of 24 isolates (77% of cases) carried a complete *CagPAI*. Among the negative isolates for one or more genes with *CagPAI*, 7 (22%) were considered to be carriers of a defective *CagPAI*. No significant differences were observed in *H. pylori* density averages, degree of chronic inflammation, presence of glandular atrophy or intestinal metaplasia between isolates with complete *CagPAI* and isolates with defective *CagPAI*. No significant differences were observed in the histopathological parameters between isolates with one EPIYA-C motif and those with more than one EPIYA-C motif, neither in antrum nor in body, except for infiltration by neutrophils which was significantly greater in bodies with isolates with more than one EPIYA-C motif ($p=0.018$). **Conclusions:** No association was found between the diversity of virulence *CagPAI* and *CagA* factors in Colombian isolates and the histopathological findings in gastritis, or in other host or environmental factors that could affect the histopathological characteristics of gastritis.

Key words: *Helicobacter Pylori*, gastritis, virulence factors, polymorphism, genetic

Introducción

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es un microorganismo que coloniza de manera permanente la mucosa gástrica humana, donde causa una respuesta inflamatoria aguda (1). La colonización persistente de la mucosa gástrica induce gastritis y se asocia al desarrollo de gastritis atrófica, úlcera péptica, linfoma tipo MALT y adenocarcinoma gástrico (2). El resultado clínico de la infección se ha asociado a factores de virulencia de la bacteria, factores del hospedero y factores ambientales (3).

Se ha demostrado en estudios epidemiológicos que la infección con cepas de *H. pylori* que portan el gen asociado a citotoxina (*CagA*) se asocia, por su parte, a un mayor riesgo de desarrollar úlcera péptica y cáncer gástrico (4); sin embargo, en individuos con gastritis superficial hasta un 50% de las cepas identificadas porta el gen *CagA* (5). El gen *CagA* es uno de varios genes de un islote de patogenicidad denominado *CagPAI*, de, aproximadamente, 40 kb (6). El *CagPAI* contiene 31 genes; 6 de ellos codifican un sistema de secreción tipo IV (SST4) que permite el transporte de moléculas a través de la membrana bacteriana al interior de la célula epitelial (7). El producto del gen *CagA* es una proteína de entre 125 y 140 Kd, denominada *CagA* (8). Durante la infección la proteína *CagA* es directamente traslocada desde la bacteria hacia

el interior de la célula epitelial; vía el SST4, se localiza en la membrana y es fosforilada en tirosinas por cinasas de la familia src (SFKs) (9).

La proteína *CagA* fosforilada se une a la tirosina fosfatasa SHP2 y desregula su actividad (10); la enzima SHP2 activada altera vías que conducen a motilidad celular incrementada y progresión del ciclo celular, características de células transformadas, y por tal razón se propone que la desregulación de SHP2 por *CagA* puede ser importante en el desarrollo del cáncer gástrico (11).

La proteína *CagA* es fosforilada en varios sitios Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA), presentes en su región C-terminal (12); esta región de la proteína presenta alta divergencia entre cepas, y en aislamientos del hemisferio occidental está compuesta por combinaciones de 3 tipos de motivos EPIYA, denominados A, B y C, definidos, a su vez, por la secuencia de aminoácidos que los rodea (10). En varios estudios se ha encontrado que en cepas con mayor número de motivos EPIYA-C se da una mayor fosforilación de *CagA*, y, por ende, sus efectos celulares son más intensos (13,14). En consecuencia, el número de motivos de fosforilación EPIYA-C puede considerarse como probable determinante de virulencia de la proteína *CagA*, y podría ser un marcador clínico para predecir el potencial de virulencia de aislamientos de *H. pylori*.

En el presente estudio se investiga la asociación potencial entre determinantes bacterianos de virulencia y las manifestaciones histopatológicas de la infección en individuos colombianos con diagnóstico de gastritis. Específicamente, aislamientos de *H. pylori* que provenían de pacientes con gastritis se caracterizaron en relación con la integridad de islote de patogenicidad *Cag* y el número de motivos EPIYA-C en la proteína *CagA*, y se analizó la posible asociación de estos determinantes de virulencia bacteriana a las características histopatológicas de la gastritis.

Métodos

En el grupo a cargo de la presente investigación se hizo un estudio que incluyó evaluación del islote de patogenicidad *Cag* y caracterización de motivos EPIYA de la proteína *CagA* de *H. pylori* para 151 aislamientos (15). Un porcentaje de dichos aislamientos provenía de un estudio epidemiológico previo titulado: *Helicobacter pylori: prevalencia internacional, úlcera duodenal y neoplasia gástrica*, en el cual se hizo una caracterización completa de la gastritis en todas las biopsias.

En el reporte actual se quiso evaluar en aquellos aislamientos que se habían caracterizado molecularmente (y de los cuales se tenía la información sobre las características histopatológicas de la gastritis, que eran, en total, 31) si existía relación entre la integridad del *CagPAI* y los polimorfismos en el gen *CagA* con la severidad de la gastritis. Se incluyó en el presente estudio a 31 individuos (*edad promedio* = 49,7 años; rango: 30-80 años), con diagnóstico de gastritis sin evidencia de enfermedad ulcerosa.

A todos los individuos reclutados en el estudio *Helicobacter pylori: prevalencia internacional, úlcera duodenal y neoplasia gástrica* se les tomaron 12 biopsias (5 del antro, 5 del cuerpo y 2 de la incisura angularis). De las biopsias (de antro y cuerpo), 6 fueron fijadas en formalina e incluidas en parafina. Se hicieron secciones de 3 μ m, que fueron coloreadas con hematoxilina-eosina. Los parámetros histopatológicos de densidad de *H. pylori*, inflamación crónica, actividad de polimorfonucleares, atrofia glandular y metaplasia intestinal fueron evaluados

por dos patólogos con amplia experiencia en patología gástrica. Se empleó una escala ordinal de 0 a 3, según los criterios establecidos en la clasificación actualizada de Sidney (16).

Con el propósito de evaluar la integridad del *CagPAI*, las cepas de *H. pylori* se cultivaron por 3 días en agar sangre suplementado con un 7% de suero de caballo, Vitox al 1%, y suplemento selectivo de *Campylobacter*, a 37 °C, en atmósfera de CO₂ al 10%. Se obtuvo ADN genómico de *H. pylori* a partir de cajas de cultivo de cada aislamiento, mediante el método de extracción con DNAzol (Invitrogen), según instrucciones del fabricante.

Para determinar la integridad del *CagPAI* se evaluó la presencia de los genes *CagA*, *CagT*, *CagE*, y *CagI0*, mediante reacciones de PCR. Las reacciones se realizaron en un volumen de 25 μ l con Tris 10 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 1,5 mM, 200 μ M dNTPs, 25 pmol de iniciadores, 100 ng de ADN genómico de *H. pylori* y 1U de Taq polymerase. Se emplearon condiciones de PCR descritas en estudios previos (17,18). Los productos de PCR fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa. Como control positivo de la integridad del *CagPAI* se empleó ADN de la cepa NCTC 11637, y como control negativo ADN, la cepa 3063.

La asociación entre el diagnóstico global y el número de motivos EPIYA se evaluó mediante la prueba de χ^2 ; se empleó la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario. Las diferencias entre los parámetros histológicos, según la combinación EPIYA y la integridad del *CagPAI*, fueron analizadas con la prueba de Mann-Whitney.

Resultados

Se incluyeron en el estudio 31 aislamientos provenientes de pacientes con diagnóstico global de: gastritis no atrófica ($n=12$), gastritis atrófica ($n=8$) y gastritis atrófica con metaplasia intestinal ($n=11$); todos ellos, positivos para el gen *CagA*, y a los cuales se les caracterizó en un estudio previo la composición de motivos EPIYA en la región carboxiterminal de la proteína *CagA* (15). En la figura 1 se presenta la distribución de las diferentes combinaciones de motivos EPIYA; la combinación ABC fue la más

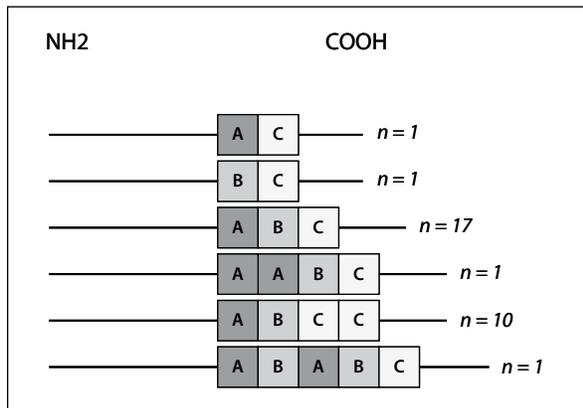


Figura 1. Combinaciones de motivos EPIYA de la proteína CagA de los 31 aislamientos de *H. pylori* incluidos en el presente estudio. Todos los aislamientos portaban de 2 a 5 motivos EPIYA del tipo Occidental (A, B y C).

común, con el 54,8%, seguida de la ABCC (32,3%). De cada paciente se disponía de biopsias de cuerpo y antro, cuyos parámetros histopatológicos fueron evaluados de acuerdo con el sistema de clasificación de Sidney (16).

De los 31 aislamientos *CagA* positivos incluidos en el estudio, 27 (87%) fueron positivos para el gen *CagE*; otros 26 (83%), positivos para el gen *CagI*; y 24 (77%), positivos para el gen *Cag10*. En total, 24 aislamientos (77%) fueron positivos para los 4 genes del *CagPAI* analizados por PCR, por lo cual se predijo que portarían un islote de patogenicidad íntegro. Los 7 aislamientos restantes que resultaron negativos para 1 o más genes del *CagPAI* (22%) fueron considerados como portadores de un *CagPAI* defectuoso o incompleto.

Se observó una mayor proporción de cepas con más de un motivo EPIYA-C en pacientes con diagnóstico de gastritis atrófica (7/19; 36,8%), en comparación con las cepas provenientes de gastritis no atrófica (3/12; 25,0%); sin embargo, tal diferencia no fue estadísticamente significativa ($P > 0,05$ prueba exacta de Fischer).

No se observaron diferencias en la frecuencia de cepas con el *CagPAI* íntegro según el diagnóstico global; la mayoría de los aislamientos, tanto de gastritis no atrófica (3/12; 75,0%) como de gastritis atrófica (15/19; 78,9%) portaba un islote de patogenicidad íntegro.

En la figura 2 se presentan los parámetros histológicos evaluados en los pacientes con diagnóstico de gastritis según el estatus del *CagPAI* (íntegro o defectivo). En la tabla 1 se reportan los valores de promedio y de mediana de densidad de *H. pylori*, de infiltración por neutrófilos, de inflamación, de atrofia glandular y de metaplasia intestinal, luego de subdividir a los pacientes según si la cepa de *H. pylori* aislada de la biopsia portaba o no el islote de patogenicidad íntegro. No se observó relación entre el estatus del *CagPAI* y el grado de infiltración por mononucleares o por polimorfonucleares neutrófilos.

La densidad de *H. pylori* fue notoriamente mayor en las biopsias de antro para aislamientos con el *CagPAI* íntegro que en aislamientos con *CagPAI* defectuoso. En cuerpo, las densidades de *H. pylori*

Tabla 1. Relación entre los hallazgos histopatológicos en las biopsias gástricas y la integridad del *CagPAI*

Parámetros	Localización	Estatus <i>CagPAI</i>				Z	P ^a
		Íntegro (n=24)		Defectuoso (n=7)			
		Media ± DE	Mediana (rango)	Media ± DE	Mediana (rango)		
Densidad <i>H. pylori</i>	Antro	1,87 ± 1,05	2 (0-3)	1,14 ± 1,06	2 (0-2)	-1,49	0,13
	Cuerpo	2,17 ± 0,87	2 (0-3)	1,85 ± 1,06	2 (0-3)	-0,75	0,46
Infiltración por neutrófilos	Antro	2,21 ± 0,95	2 (0-3)	2,00 ± 1,15	2 (0-3)	-0,61	0,63
	Cuerpo	2,26 ± 0,86	2 (0-3)	2,57 ± 0,33	3 (2-3)	-1,40	0,16
Inflamación crónica	Antro	2,26 ± 0,54	2 (1-3)	2,14 ± 0,37	2 (2-3)	-0,42	0,70
	Cuerpo	2,04 ± 0,37	2 (1-3)	2,28 ± 0,49	2 (2-3)	-0,73	0,53
Atrofia glandular	Antro	0,80 ± 0,93	1 (0-3)	0,57 ± 0,78	0 (0-2)	-0,55	0,58
	Cuerpo	0,21 ± 0,67	0 (0-3)	0,14 ± 0,87	0 (0-1)	-0,04	0,97
Metaplasia intestinal	Antro	0,65 ± 1,07	0 (0-3)	0,57 ± 1,13	0 (0-3)	-0,12	0,90
	Cuerpo	0,17 ± 0,65	0 (0-3)	0	0	-0,79	0,43

^aMann-Whitney.

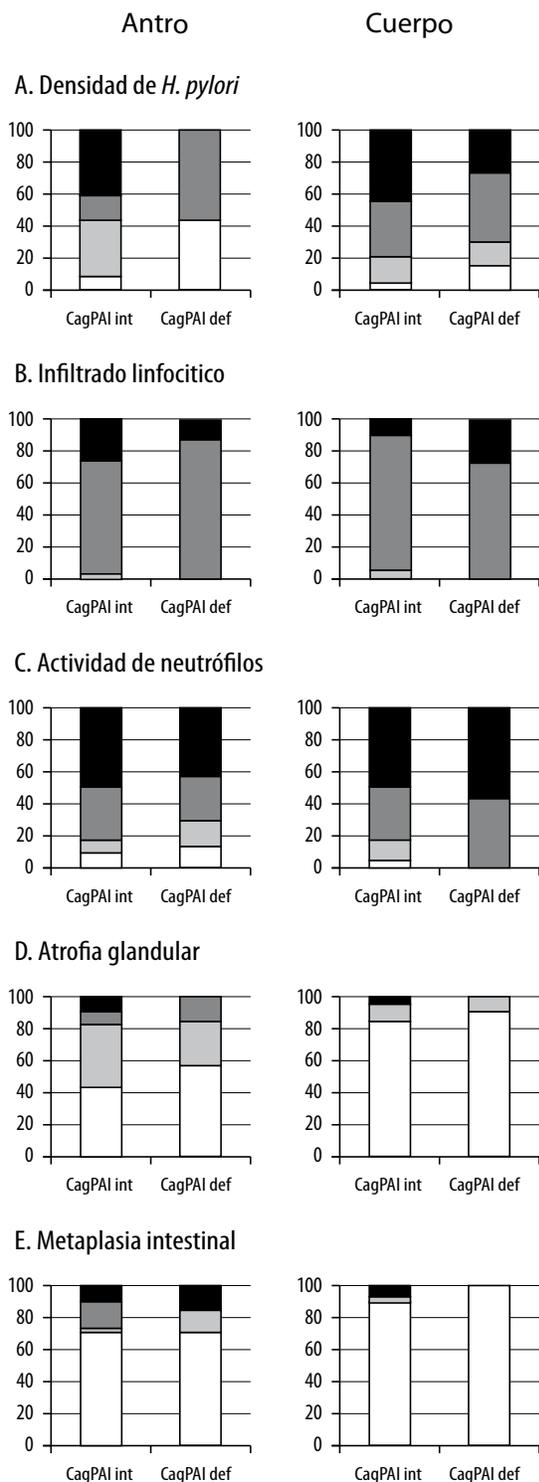


Figura 2. Parámetros histológicos determinados en biopsias de antro y de cuerpo agrupados según la integridad del CagPAI en las cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes con diagnóstico de gastritis. Patrones: blanco=negativo, gris claro=leve, gris oscuro=moderado, negro=severo.

fueron ligeramente mayores para aislamientos con el CagPAI íntegro que con el CagPAI defectivo. En antro y en cuerpo, la atrofia glandular y la metaplasia intestinal fueron ligeramente mayores para aislamientos con el CagPAI íntegro; sin embargo las diferencias observadas no alcanzaron significancia estadística.

En la figura 3 se presentan los parámetros histológicos evaluados en los pacientes con diagnóstico de gastritis según el número de motivos EPIYA-C en CagA. En la tabla 2 los valores de promedio y de mediana de la densidad de *H. pylori*, de infiltración por neutrófilos, de inflamación, de atrofia glandular y de metaplasia intestinal son reportados luego de subdividir a los pacientes según si la cepa de *H. pylori* aislada de la biopsia portaba uno o más de un motivo EPIYA-C en la región C-terminal de la proteína CagA.

El número de biopsias, tanto en antro como en cuerpo, con densidad de *H. pylori* severa fue mayor para aislamientos con un motivo EPIYA-C. No se observaron diferencias en los promedios de densidad de *H. pylori*, ni en el grado de inflamación crónica, ni en la presencia de atrofia glandular o de metaplasia intestinal entre aislamientos con un motivo EPIYA-C o más de un motivo EPIYA-C, ni en antro ni en cuerpo. Se observó una mayor infiltración por neutrófilos en aislamientos con más de un motivo EPIYA-C en cuerpo. Esta última diferencia fue significativa estadísticamente ($p = 0,018$).

Discusión

La colonización de la mucosa gástrica con *H. pylori* afecta a la mitad de la población mundial (19). En todos los individuos infectados la bacteria causa gastritis crónica activa, la cual progresa a úlcera péptica, a linfoma MALT o a cáncer gástrico en un 10%-20% de los individuos infectados (20-22).

Si bien el papel de la colonización persistente de la mucosa gástrica con *H. pylori* en la patogénesis del cáncer gástrico ha sido confirmado en múltiples estudios de casos y controles (23), así como en modelos animales (24), los factores capaces de determinar que un subgrupo de individuos desarrolle enfermedad gastroduodenal grave, mientras la

Tabla 2. Relación entre los hallazgos histopatológicos en las biopsias gástricas y el número de motivos EPIYA en la proteína CagA de *H. pylori*

Parámetros	Localización	# EPIYA-C				Z	P ^a																																																									
		1 (n=21)		>1 (n=10)																																																												
		Media ± DE	Mediana (rango)	Media ± DE	Mediana (rango)																																																											
Densidad <i>H. pylori</i>	Antro	1,66 ± 1,19	1,0 (0-3)	1,70 ± 0,82	2,00 (0-3)	-0,63	0,55																																																									
	Cuerpo	2,10 ± 0,98	2,5 (0-3)	2,02 ± 0,81	2,00 (0-3)			Infiltración por neutrófilos	Antro	2,15 ± 0,48	2,0 (0-3)	2,20 ± 1,03	2,50 (0-3)	-1,90	0,88	Cuerpo	2,10 ± 0,85	2,0 (0-3)	2,80 ± 0,42	3,00 (2-3)	-2,37	0,018	Inflamación crónica	Antro	2,10 ± 0,48	2,0 (1-3)	2,40 ± 0,51	2,00 (2-3)	-1,26	0,20	Cuerpo	2,05 ± 0,39	2,0 (1-3)	2,20 ± 0,42	2,00 (2-3)	-9,51	0,55	Atrofia glandular	Antro	0,85 ± 0,98	1,0 (0-3)	0,55 ± 0,68	0,25 (0-2)	-0,66	0,51	Cuerpo	0,25 ± 0,71	0,0 (0-3)	0,10 ± 0,31	0,00 (0-1)	-0,41	0,68	Metaplasia intestinal	Antro	0,65 ± 1,08	0,0 (0-3)	0,60 ± 1,07	0,00 (0-3)	-0,41	0,68	Cuerpo	0,20 ± 0,69	0,0 (0-3)	0
Infiltración por neutrófilos	Antro	2,15 ± 0,48	2,0 (0-3)	2,20 ± 1,03	2,50 (0-3)	-1,90	0,88																																																									
	Cuerpo	2,10 ± 0,85	2,0 (0-3)	2,80 ± 0,42	3,00 (2-3)	-2,37	0,018																																																									
Inflamación crónica	Antro	2,10 ± 0,48	2,0 (1-3)	2,40 ± 0,51	2,00 (2-3)	-1,26	0,20																																																									
	Cuerpo	2,05 ± 0,39	2,0 (1-3)	2,20 ± 0,42	2,00 (2-3)	-9,51	0,55																																																									
Atrofia glandular	Antro	0,85 ± 0,98	1,0 (0-3)	0,55 ± 0,68	0,25 (0-2)	-0,66	0,51																																																									
	Cuerpo	0,25 ± 0,71	0,0 (0-3)	0,10 ± 0,31	0,00 (0-1)	-0,41	0,68																																																									
Metaplasia intestinal	Antro	0,65 ± 1,08	0,0 (0-3)	0,60 ± 1,07	0,00 (0-3)	-0,41	0,68																																																									
	Cuerpo	0,20 ± 0,69	0,0 (0-3)	0	0	-1,02	0,309																																																									

^aMann-Whitney.

mayoría permanece en un estado de portador, no han sido establecidos.

El islote de patogenicidad *CagPAI* es considerado como el principal factor genético de *H. pylori* asociado al desarrollo de úlcera péptica o de cáncer gástrico, y aunque las cepas *CagPAI* positivo se encuentran muy a menudo en individuos que desarrollan cáncer, en su gran mayoría, los individuos colonizados por cepas portadoras del *CagPAI* permanecen asintomáticos. El gen *CagA*, localizado en un extremo del *CagPAI*, es considerado como marcador de la presencia del *CagPAI*. En muchos estudios se ha observado que la presencia de *CagA* se asocia a mayor riesgo de gastritis atrófica (25), de úlcera duodenal (26) y de cáncer (4).

En Colombia, un país con alta incidencia de cáncer gástrico, entre el 72% y el 90% de los aislamientos de *H. pylori* porta el gen *CagA* (5,27,28). Si bien se asume que el gen *CagA* es marcador de la presencia del *CagPAI* completo, en la presente investigación se halló que solo el 87% de los aislamientos *CagA* positivos portaba un *CagPAI* completo. Tales resultados muestran que la presencia del gen *CagA* no garantiza que los genes críticos dentro del *CagPAI* están intactos, y refuerzan reportes previos, los cuales señalan que la presencia del gen *CagA* no es un marcador adecuado de integridad del *CagPAI* (29-31), y que para identificar cepas con mayor virulencia es necesario identificar la presencia de un *CagPAI* funcional (29).

Varios genes del *CagPAI* codifican proteínas que incrementan la virulencia de la cepa mediante el aumento de los niveles de IL-8 secretados por las células epiteliales gástricas (32), lo que causa infiltración de polimorfonucleares neutrófilos, y lleva, a su vez, a una actividad inflamatoria más pronunciada.

La relación entre los genotipos de *H. pylori* y la respuesta inflamatoria varía según la región geográfica: en países occidentales se ha encontrado que la infección con cepas *CagA* positivas se asocia a mayor severidad en la inflamación gástrica, mientras que en cepas asiáticas no se aprecia dicha diferencia (33).

En el presente estudio no se demostró asociación entre el estatus del *CagPAI* y los hallazgos histopatológicos de la gastritis. Aunque la densidad de *H. pylori*, el grado de la atrofia glandular y la metaplasia fueron mayores en pacientes infectados con cepas con el *CagPAI* intacto, en un estudio previo Hsu *et al.* reportan hallazgos similares a los del presente estudio en cepas colombianas (29). Ello sugiere que, si bien el *CagPAI* puede estar involucrado en el establecimiento de las enfermedades gastroduodenales asociadas a *H. pylori*, otros factores importantes para la patogenicidad, como variaciones en la producción de ácido, la genética del individuo infectado, el consumo de alcohol, el tabaquismo y otros factores de virulencia de *H. pylori* pueden afectar los hallazgos histopatológicos.

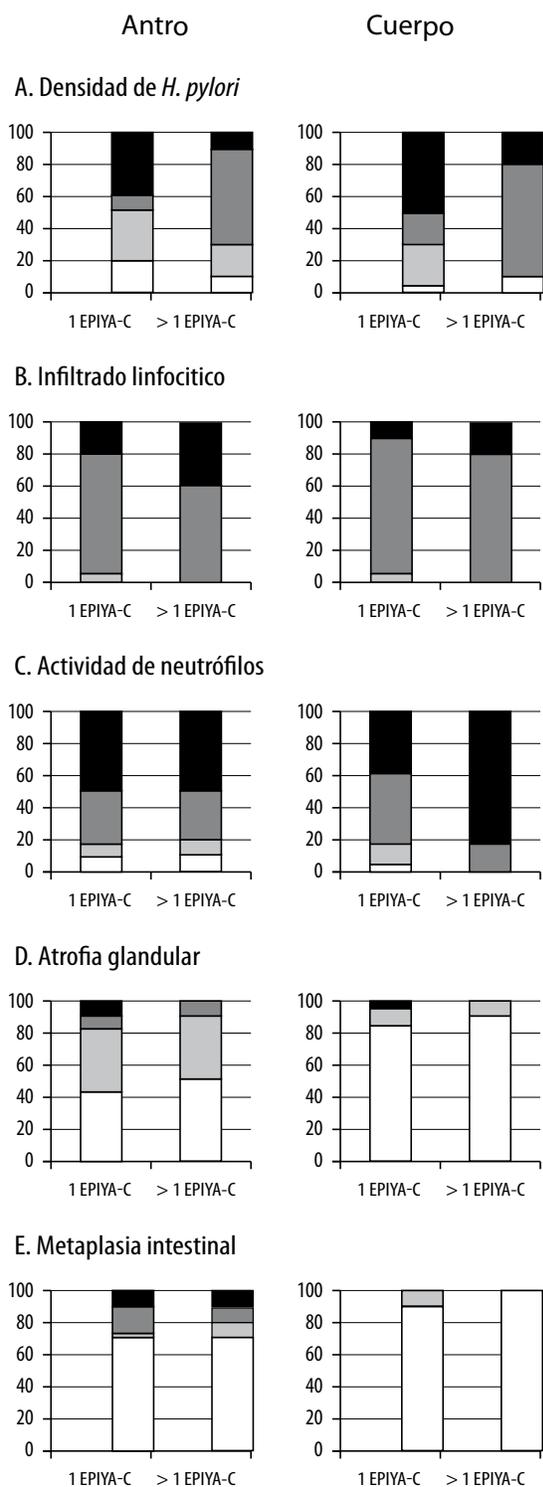


Figura 3. Parámetros histológicos determinados en biopsias de antro y de cuerpo agrupados según el número de motivos EPIYA-C presentes en las cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes con diagnóstico de gastritis. Patrones: blanco=negativo, gris claro=leve, gris oscuro=moderado, negro=severo.

La diversidad en el número de motivos de fosforilación EPIYA en la proteína CagA ha sido sugerida como un factor importante en la patogénesis por *H. pylori*. En tal sentido, la caracterización de los motivos EPIYA de aislamientos clínicos de *H. pylori* podría brindar herramientas predictivas de la patogénesis de *H. pylori*.

En los aislamientos evaluados la combinación ABC fue la más habitual, con un 54,8%, seguida de la ABCC, con un 32,3%; una distribución similar a la reportada en estudios previos para aislamientos colombianos (15,34,35).

En los casos de gastritis atrófica, la presente investigación halló una mayor frecuencia de cepas con la combinación ABCC, en comparación con los casos de gastritis no atrófica; sin embargo, tal diferencia no fue significativa. En algunos estudios se ha asociado la presencia de un mayor número de motivos EPIYA-C a lesiones gástricas más severas (35,36), mientras que en otros, incluyendo el trabajo previo de este grupo, no se ha confirmado tal asociación (15,37).

No se observó relación entre la diversidad en los motivos EPIYA y la histopatología de la gastritis, excepto la actividad de polimorfonucleares neutrófilos en cuerpo, que fue significativamente mayor para aislamientos con más de un EPIYA-C; dicho resultado concuerda con los hallazgos de Argent *et al.*, quienes encuentran que las cepas con más de un motivo EPIYA-C producen mayores niveles de IL-8, lo cual podría explicar el mayor grado de actividad de polimorfonucleares neutrófilos observado (14); sin embargo, en otros estudios no se reporta asociación entre un mayor número de motivos EPIYA-C y los niveles de IL-8 (38,39). Esta investigación no halló estudios previos que evalúen dicha asociación en aislamientos colombianos.

En conclusión, los resultados del presente estudio sugieren que no hay asociación entre la diversidad en los factores de virulencia CagPAI y CagA de aislamientos colombianos y la severidad de los hallazgos histopatológicos. Otros factores del hospedero o ambientales podrían afectar las características histopatológicas de la gastritis; sin

embargo, no se puede excluir la posibilidad de que la ausencia de asociación observada obedezca al pequeño tamaño muestral.

Financiación

Instituto Nacional de Cancerología (INC). Rubro No. 41030310-28.

Referencias

- Blaser MJ. Ecology of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *J Clin Invest*. 1997;100:759-62.
- IARC working Group on the evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1994.
- McGee DJ, Mobley HL. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Curr Opin Gastroenterol*. 2000;16:24-31.
- Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing CagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res*. 1995;55:2111-5.
- Quiroga AJ, Cittelly DM, Bravo MM. [BabA2, oipA and CagE *Helicobacter pylori* genotypes in Colombian patients with gastroduodenal diseases]. *Biomédica*. 2005;25:325-34.
- Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(25):14648-53.
- Akopyants NS, Clifton SW, Kersulyte D, et al. Analyses of the Cag pathogenicity island of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol*. 1998;28:37-53.
- Tummuru MK, Cover TL, Blaser MJ. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun*. 1993;61:1799-809.
- Stein M, Rappuoli R, Covacci A. Tyrosine phosphorylation of the *Helicobacter pylori* CagA antigen after Cag-driven host cell translocation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:1263-8.
- Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science*. 2002;295:683-6.
- Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nat Rev Cancer*. 2004;4:688-94.
- Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, et al. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:14428-33.
- Argent RH, Kidd M, Owen RJ, et al. Determinants and consequences of different levels of CagA phosphorylation for clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 2004;127:514-23.
- Argent RH, Hale JL, El-Omar EM, et al. Differences in *Helicobacter pylori* CagA tyrosine phosphorylation motif patterns between western and East Asian strains, and influences on interleukin-8 secretion. *J Med Microbiol*. 2008;57:1062-7.
- Acosta N, Quiroga A, Delgado P, et al. *Helicobacter pylori* CagA protein polymorphisms and their lack of association with pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2010;16:3936-43.
- Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol*. 1996;20:1161-81.
- Tummuru MK, Sharma SA, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* picB, a homologue of the *Bordetella pertussis* toxin secretion protein, is required for induction of IL-8 in gastric epithelial cells. *Mol Microbiol*. 1995;18:867-76.
- Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T, et al. Structure of Cag pathogenicity island in Japanese *Helicobacter pylori* isolates. *Gut*. 1999;44:336-41.
- Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002;347:1175-86.
- Peek RM Jr, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:28-37.
- Blaser MJ, Berg DE. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. *J Clin Invest*. 2001;107:767-73.
- Israel DA, Peek RM. Pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2001;15:1271-90.
- Helicobacter* and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut*. 2001;49:347-53.
- Honda S, Fujioka T, Tokieda M, et al. Development of *Helicobacter pylori*-induced gastric carcinoma in Mongolian gerbils. *Cancer Res*. 1998;58:4255-9.
- Kuipers EJ, Pérez-Pérez GI, Meuwissen SG, et al. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the CagA status. *J Natl Cancer Inst*. 1995;87:1777-80.
- Weel JF, van der Hulst RW, Gerrits Y, et al. The interrelationship between cytotoxin-associated gene A, vacuolating

- cytotoxin, and *Helicobacter pylori*-related diseases. *J Infect Dis.* 1996;173:1171-5.
27. Bravo LE, van Doorn LJ, Realpe JL, et al. Virulence-associated genotypes of *Helicobacter pylori*: do they explain the African enigma? *Am J Gastroenterol.* 2002;97:2839-42.
 28. Quiroga AJ, Huertas A, Cómbita AL, et al. Variation in the number of EPIYA-C repeats in CagA protein from Colombian *Helicobacter pylori* strains and its ability middle to induce hummingbird phenotype in gastric epithelial cells. *Biomédica.* 2010;30:251-8.
 29. Hsu PI, Hwang IR, Cittelly D, et al. Clinical presentation in relation to diversity within the *Helicobacter pylori* Cag pathogenicity island5. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:2231-8.
 30. Kauser F, Khan AA, Hussain MA, et al. The Cag pathogenicity island of *Helicobacter pylori* is disrupted in the majority of patient isolates from different human populations. *J Clin Microbiol.* 2004;42:5302-8.
 31. Nguyen LT, Uchida T, Tsukamoto Y, et al. Clinical relevance of CagPAI intactness in *Helicobacter pylori* isolates from Vietnam. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010;29:651-60.
 32. Shimoyama T, Crabtree JE. Mucosal chemokines in *Helicobacter pylori* infection. *J Physiol Pharmacol.* 1997;48:315-23.
 33. Umit H, Tezel A, Bukavaz S, et al. The relationship between virulence factors of *Helicobacter pylori* and severity of gastritis in infected patients. *Dig Dis Sci.* 2009;54:103-10.
 34. Schneider N, Krishna U, Romero-Gallo J, et al. Role of *Helicobacter pylori* CagA molecular variations in induction of host phenotypes with carcinogenic potential. *J Infect Dis.* 2009;199:1218-21.
 35. Sicinski LA, Correa P, Peek RM, et al. CagA C-terminal variations in *Helicobacter pylori* strains from Colombian patients with gastric precancerous lesions. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16:369-78.
 36. Yamaoka Y, El-Zimaity HM, Gutiérrez O, et al. Relationship between the CagA 3' repeat region of *Helicobacter pylori*, gastric histology, and susceptibility to low pH. *Gastroenterology.* 1999;117:342-9.
 37. Rizzato C, Torres J, Plummer M, et al. Variations in *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated genes and their influence in progression to gastric cancer: implications for prevention. *PLoS One.* 2012;7:e29605.
 38. Reyes-León A, Atherton JC, Argent RH, et al. Heterogeneity in the activity of Mexican *Helicobacter pylori* strains in gastric epithelial cells and its association with diversity in the CagA gene. *Infect Immun.* 2007;75:3445-54.
 39. Sgouras DN, Panayotopoulou EG, Papadakis K, et al. CagA and VacA polymorphisms do not correlate with severity of histopathological lesions in *Helicobacter pylori*-infected Greek children. *J Clin Microbiol.* 2009;47:2426-34.