



Biomédica

ISSN: 0120-4157

biomedica@ins.gov.co

Instituto Nacional de Salud
Colombia

Quiroga, Andrés Javier; Cittelly, Diana Marcela; Bravo, María Mercedes
Frecuencia de los genotipos babA2, oipA y cagE de Helicobacter pylori en pacientes colombianos con
enfermedades gastroduodenales
Biomédica, vol. 25, núm. 3, septiembre, 2005, pp. 325-334
Instituto Nacional de Salud
Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84325308>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ARTÍCULO ORIGINAL

Frecuencia de los genotipos *babA2*, *oipA* y *cagE* de *Helicobacter pylori* en pacientes colombianos con enfermedades gastroduodenales

Andrés Javier Quiroga, Diana Marcela Cittelly, María Mercedes Bravo

Laboratorio de Inmunología, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D. C., Colombia.

Introducción. La infección con *Helicobacter pylori* está asociada con el desarrollo de diferentes enfermedades gastroduodenales. Varios genes de virulencia de *H. pylori* se han relacionado con mayor riesgo de enfermedad gástrica.

Objetivos. El propósito de este trabajo fue determinar las posibles asociaciones entre la presencia de los genes *vacA*, *cagA*, *cagE*, *babA2* y *oipA* en aislamientos de *H. pylori* de pacientes colombianos y las diferentes consecuencias clínicas de la infección.

Materiales y métodos. Mediante PCR se evaluaron los genotipos *cagA*, *vacA*, *cagE*, *oipA* y *babA2* en 166 aislamientos de *H. pylori* provenientes de 50 pacientes con úlcera péptica, 39 con gastritis crónica no atrófica, 26 con gastritis crónica atrófica, 26 con metaplasia intestinal y 25 con adenocarcinoma gástrico.

Resultados. La frecuencia de los genotipos *cagA*, *cagE*, *babA2* y *oipA* fue de 73%, 75%, 48% y 74%, respectivamente. El 64% (100/157) de los aislamientos presentó el genotipo citotóxico *vacAs1m1/cagA* positivo/*cagE* positivo. Se observó una mayor frecuencia de cepas citotóxicas en pacientes con cáncer (84%), metaplasia (91%) y úlcera (81%) en comparación con pacientes con gastritis no atrófica (50%) ($p=0,002$, $0,008$ y $0,007$, respectivamente). La frecuencia de *oipA* y *babA2* fue mayor en cepas citotóxicas que en cepas no citotóxicas (*oipA*: 81% vs. 52%, $p=0,003$; *babA2*: 58% vs. 12%, $p=0,000$). No se observaron diferencias significativas en la frecuencia de los genes *oipA* o *babA2* solos o en asociación con *vacA* y *cagA/cagE* y las diferentes enfermedades gastroduodenales.

Conclusiones. No se encontraron evidencias que sugieran que los genes *babA2* u *oipA* puedan servir como marcadores de ulcerogénesis o carcinogénesis en esta población, solos o en asociación con *cagA*, *cagE* o *vacA*.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, genotipo, enfermedades del sistema digestivo, Colombia.

BabA2, oipA and cagE *Helicobacter pylori* genotypes in Colombian patients with gastroduodenal diseases

Introduction. *Helicobacter pylori* infection is associated with the development of several gastroduodenal diseases. Bacterial virulence genes have been found associated with an increased risk for gastric disease.

Objectives. Herein, associations were made between the presence of *vacA*, *cagA*, *cagE*, *babA2* and *oipA* genes in *H. pylori* isolates and the range of clinical consequences of the infection.

Methods. PCR was used to amplify *vacA*, *cagA*, *cagE*, *babA2* and *oipA* genes in 166 isolates-50 patients with peptic ulcer, 39 with non-atrophic gastritis, 26 with atrophic gastritis, 26 with intestinal metaplasia and 25 with gastric adenocarcinoma.

Results. *cagA*, *cagE*, *babA2* and *oipA* genes were found in 73%, 75%, 48% and 74% of isolates, respectively. The cytotoxic *vacAs1m1/cagA* positive/*cagE* positive genotype was present in 64% (100/157) of isolates. A higher frequency of cytotoxic strains was observed in cancer patients (84%), intestinal metaplasia (91%) and peptic ulcer (81%) in comparison with gastritis patients (50%) ($p=0,002$, $0,008$, $0,007$, respectively). The *oipA* and *babA2* frequency was higher in cytotoxic isolates than in non-cytotoxic isolates (*oipA*: 81% vs. 52%, $P=0,003$; *babA2*: 58%

vs. 12% ($p<0.001$). No significant association was found among clinical outcomes and *oipA* or *babA2* genotypes, analyzed alone or in combination with *vacA* and *cagA*.

Conclusion. Therefore, *babA2* or *oipA* genes are not marker indicators of ulcer or cancer.

Keywords: *Helicobacter pylori*, genotype, digestive system diseases, Colombia.

Helicobacter pylori ha sido considerado como carcinógeno humano por la *International Agency for research on cancer* (1). Se estima que más de la mitad de la población mundial está infectada con esta bacteria, la prevalencia de la infección es alta en poblaciones con alta incidencia de cáncer gástrico, como Japón y Colombia; sin embargo, existen poblaciones con altas prevalencias de infección y muy bajas tasas de cáncer gástrico, hecho que señala que no todas las infecciones con *H. pylori* incrementan el riesgo de cáncer gástrico (2,3). La infección induce inicialmente una gastritis crónica superficial que, en 15 a 20% de individuos, puede progresar hacia úlcera péptica o hacia gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal, displasia y carcinoma gástrico o hacia linfoma MALT (4). No se conocen los factores que determinan los resultados tan disímiles que puede tener la infección, ni porqué sólo una minoría de individuos infectados desarrollará enfermedad grave.

Varios genes de *H. pylori* se han asociado con virulencia y mayor riesgo de enfermedad gástrica grave, en particular se han estudiado genes relacionados con la producción de citotoxina bacteriana, la inducción de citocinas proinflamatorias y la adhesión de la bacteria al epitelio (5). El gen *vacA* codifica la citotoxina vacuolizante VacA; está presente en todas las cepas de *H. pylori*; las cepas que portan el tipo VacA s1 son más virulentas, tienen mayor actividad citotóxica y se asocian con mayor riesgo de úlcera péptica, gastritis atrófica y cáncer (6, 7). El gen asociado a la citotoxina (*cagA*) es un marcador de la presencia de un isloote de patogenicidad (*cag PAI*) de 40 kb; las cepas *cagA* positivas se asocian con mayor inducción de interleucina 8 (IL-8) en el

epitelio y mayor riesgo de úlcera péptica, gastritis atrófica y cáncer (8, 9). En estudios posteriores se han encontrado inconsistencias en estas asociaciones, su existencia depende de la población o zona geográfica de la que provengan los aislamientos (10,11). En un estudio reciente con cepas colombianas encontramos que en gastritis no atrófica existe una frecuencia más baja de cepas con genotipos citotóxicos (*cagA* positivo *vacA* positivo) en comparación con la observada en gastritis atrófica, metaplasia intestinal, úlcera péptica y cáncer gástrico (12). Esto sugiere que, inclusive en Colombia, un país con alta prevalencia de infección, estos genes podrían ser usados como marcadores de mayor virulencia y riesgo de desarrollar enfermedad gástrica severa; sin embargo, carecen de utilidad para diferenciar cepas con potencial carcinogénico de cepas con potencial ulcerogénico.

Se han propuesto otros genes como marcadores de virulencia. Se ha postulado el gen *cagE*, que hace parte del *cag PAI*, como indicador de la funcionalidad de este complejo; este y otros genes del isloote son importantes en el incremento de expresión de IL-8 en el epitelio gástrico (13). El gen *oipA*, localizado fuera del *PAI*, puede inducir también liberación de IL-8 en la mucosa (14). La presencia del gen *babA2*, que codifica una adhesina BabA2 que se une a antígenos Lewis b de alta expresión en epitelio gástrico, se asocia con mayor riesgo de úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico distal y gastritis con alto grado de actividad (15); se han reportado también variaciones en la prevalencia de cepas *babA2* positivas entre países occidentales y asiáticos (15,16).

El propósito de este estudio fue determinar las posibles asociaciones entre la presencia de los genes de virulencia *vacA*, *cagA* *cagE*, *babA2* y *oipA* (o combinaciones de estos) en aislamientos de *H. pylori* de una muestra de pacientes colombianos y las diferentes consecuencias clínicas de la infección.

Correspondencia:

María Mercedes Bravo, Instituto Nacional de Cancerología.
Calle 1a. No. 9-85 Bogotá, Colombia.
Teléfono: (571) 334 0959; fax: (571) 334 1360
e-mail: mbravo@incancerologia.gov.co

Recibido:28/12/04; aceptado: 12/05/05

Materiales y métodos

Pacientes y aislamientos bacterianos

Se evaluaron 166 aislamientos de *H. pylori*, 128 obtenidos a través del programa de tamizaje en cáncer gástrico del Instituto Nacional de Cancerología, cuyos genotipos *cagA* y *vacA* fueron determinados en un estudio previo (12) y 38 aislamientos obtenidos a partir de biopsias gástricas provenientes de pacientes que asistieron a la consulta de endoscopia del Instituto de Diagnóstico Médico, IDIME (Bogotá, Colombia) por síntomas de dispepsia. Todas las cepas se obtuvieron de pacientes que presentaron diagnóstico endoscópico de úlcera péptica (úlcera duodenal o úlcera gástrica) o diagnóstico histopatológico de gastritis crónica atrófica, gastritis crónica sin atrofia, metaplasia intestinal y adenocarcinoma gástrico.

Todos los individuos consintieron su participación por escrito. Se excluyeron los aislamientos de pacientes que hubieran recibido tratamiento de erradicación de *H. pylori* o inhibidores de la bomba de protones durante el mes previo a la toma de muestra y de pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico que hubieran recibido tratamiento de radioterapia o quimioterapia. El protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Cancerología.

Mediante endoscopia se tomaron de cuatro a seis biopsias de mucosa gástrica antral. En los pacientes con cáncer, las biopsias se tomaron en zonas no comprometidas por la lesión. La evaluación histológica se hizo sobre cortes histológicos coloreados con hematoxilina-eosina, según los parámetros del sistema de Sydney modificado (17). El diagnóstico de úlcera péptica se basó en la evidencia endoscópica. En los casos en los que se presentó más de una patología se escogió la más grave como diagnóstico de referencia (metaplasia>gastritis atrófica>gastritis crónica).

Aislamiento y cultivo bacteriano

Dos o tres biopsias se sumergieron en caldo *Brucella* con glicerol al 20% y se mantuvieron a 4°C hasta 24 horas o a -20°C hasta 72 horas

después de la toma de la muestra. Las biopsias se maceraron en condiciones asépticas y fueron cultivadas sobre placas de agar *H. pylori* (LabM, 140), con suplemento de suero de caballo al 8%, isovitalex al 1% y suplemento selectivo para *Campylobacter* (Merck). Las placas se incubaron en atmósfera microaerófílica (12% CO₂, 5% O₂) a 37°C hasta 10 días, según protocolos previamente estandarizados (18). El crecimiento de colonias pequeñas, uniformes, translúcidas, brillantes, ureasa y catalasa positivas, visualizadas con tinción Gram como bacilos largos o curvos Gram negativos indicó la presencia de *H. pylori*.

Extracción del ADN genómico

Las bacterias cultivadas en medio sólido se resuspendieron en solución amortiguada fosfato salino (PBS), se ajustaron a una concentración de 5x10⁸ bacterias/ml y, posteriormente, se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos. El ADN genómico se extrajo mediante tratamiento del precipitado bacteriano con DNAzol (Gibco BRL) según las instrucciones del fabricante.

Tipificación de factores de virulencia

La determinación de los genotipos de *H. pylori* se basó en la amplificación de los genes *vacA*, *cagA*, *cagE*, *oipA* y *babA2* mediante PCR, de acuerdo con protocolos descritos previamente (7,14,19-22). Los iniciadores para la amplificación de estos genes se presentan en el cuadro 1. Cada reacción de PCR contenía solución tampón PCR (Tris HCl 20mM pH 8,4, KCl 50mM, MgCl₂ 2,5mM, 0,2 mM de cada desoxinucleotido (dNTPs) y 0,625 U de TaqDNA polimerasa (Gibco BLR) en un volumen final de 25 µl) y de 1 a 2 µl de ADN genómico. Para la amplificación de los genes *babA2* y *cagE* se realizó una denaturación inicial de 4 minutos a 94°C, seguida de 35 ciclos de: 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 50°C y 1 minuto a 72°C, con un paso final de extensión de 4 minutos a 72°C. Para la amplificación del gen *oipA* se realizó una denaturación inicial de 4 minutos a 94°C, seguida de 40 ciclos de 1 minuto a 95°C, 1 minuto a 55°C y 1 minuto a 72°C, con un paso de extensión final de 4 minutos a 72°C. Las condiciones de PCR para los alelos s1/s2, m1 y m2 del gen *vacA* y para el gen *cagA* fueron descritas en el estudio

Cuadro 1. Iniciadores usados para la amplificación de los factores de virulencia de *H. pylori*.

Gen (alelo)	Iniciador	Secuencia 5'-3'	Tamaño y ubicación del producto
vacAs1/s2	VA1 -F VA1 -R	ATggAAATACAACAAACACAC CTgCTTGAATgCgCCAAAC	s1:259bp ^a (797-1055) s2: 286bp ^c (284-569)
vacA m1	VA3 -F VA3 -R	GgTCAAAATgCggTCATgg CCATTggTACCTgTAgAAAC	290bp (2741-3030) ^a
vacA m2	VA4 -F VA4 -R	GgAgCCCCAggAACATTg CATAACTAgCgCCTTgCAC	352bp (976-1327) ^b
cagA	CagA-F CagA-R	TTgACCAACAAACCACAAACCGAAg CTTCCCTTAATTgCgAgATTCC	183bp (17-199) ^d
cagE	CagE-F CagE-R	TgCTgATACgATTAgA TAgTCCCTTAgTgATgAT	126pb (10283-10409) ^e
oipA	oip K25 oip-R	CAAgCgCTTAACAgATAggC GCTTCACgAgAAAACgCCTT	(894pb) ^f
babA2	babA2F babA2R	AATCCAAAAAggAgAAAAAgTATgAAA TgTTAgTgATTCggTgTAggACA	831pb (271-1102) ^g
ureC	ureC-F ureC-R	TgggACTggCgTgAggg AAgggCgTTTTTAgATTTT	820pb ^h

- a. Posiciones nucleotídicas en gen *vacA* de *H. pylori* 60190(m1) (7)
 b. Posiciones nucleotídicas en gen *vacA* de *H. pylori* 87-203(m2) (7)
 c. Posiciones nucleotídicas del gen *vacA* de *H. pylori* Tx30a (7)
 d. Posiciones de acuerdo con el ORF *cagA* en Genbank secuencia L11714 (19)
 e. Posiciones nucleotídicas del gen *cagE* del Genbank AF282853 (20)
 f. Posiciones nucleotídicas del gen *oipA* del Genbank AF233660-AF233683 (14)
 g. Posiciones nucleotídicas del gen *babA2* del Genbank AF033654 (15)
 h. Según metodología de Fujimoto *et al.* (23)

previo (12). Se amplificó un fragmento de 820 pb del gen *ureC* para confirmar la calidad del ADN extraído para amplificar fragmentos largos (23). En los aislamientos en los que no se observó una señal clara de amplificación de este gen no se tipificaron los genes *babA2* ni *oipA* puesto que para estos dos genes el producto esperado es de 800 pb. Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% y tinción con bromuro de etidio, 1mg/ml, bajo luz ultravioleta.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se empleó el programa SPSS versión 9.0, se utilizó la prueba de ji al cuadrado (χ^2) para comparar las frecuencias de los genes analizados en relación con los diagnósticos histopatológicos. Se empleó la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario. Para todos los análisis estadísticos se consideró una diferencia significativa cuando el valor de p era menor de 0,05 ($p<0,05$).

Resultados

Se analizaron 166 aislamientos de *H. pylori* obtenidos a partir de biopsias gástricas de 99 hombres y 67 mujeres, entre 18 y 78 años de edad (media de 49 años); 39 (23,5%) provenían de pacientes con gastritis no atrófica, 26 (15,7%) de pacientes con gastritis atrófica, 26 (15,7%) de pacientes con metaplasia intestinal 25 (15,1%) de pacientes con cáncer gástrico y 50 (30,1%) de pacientes con úlcera péptica.

Se encontró una mayor prevalencia de cepas con genotipos *vacA* alelos s1 y m1 (cuadro 2). Cinco por ciento (9/166) de los aislamientos presentó más de un genotipo *vacA* s1/s2 o m1/m2, en dos aislamientos se detectaron los alelos s1 y s2 y los alelos m1 y m2, esto debido probablemente a la existencia de infecciones con múltiples cepas; los aislamientos que presentaron esta característica fueron excluidos de los análisis posteriores. Se corroboró la asociación entre los alelos s1 y m1 y entre los alelos s2 y m2 del gen *vacA* pues el

Cuadro 2. Frecuencia de genotipos *vacA*, *cagA* y *cagE* en 166 aislamientos de *H. pylori*.

Gen	Alelo	n	(%)
<i>vacA</i>	<i>s1</i>	116	(69,9)
	<i>s1/s2</i>	3	(1,8)
	<i>s2</i>	47	(28,3)
	Total	166	
	<i>m1</i>	107	(64,5)
<i>cag PAI</i>	<i>m2</i>	51	(30,7)
	<i>m1/m2</i>	8	(4,8)
	Total	166	
	<i>cagA</i> positivo	121	(72,9)
	<i>cagA</i> negativo	45	(27,1)
<i>oipA</i>	Total	166	
	<i>cagE</i> positivo	124	(74,7)
	<i>cagE</i> negativo	42	(25,3)
	Total	166	
	<i>oipA</i> positivo	102	(74,5)
<i>babA2</i>	<i>oipA</i> negativo	35	(25,5)
	Total	137*	
	<i>babA2</i> positivo	66	(48,2)
	<i>babA2</i> negativo	71	(52,8)
	Total	137*	

* Se excluyeron 29 cepas en las que no se analizaron *oipA* y *babA2*.

67,5% (106/157) de las cepas presentó genotipo *s1/m1*, el 28,7% (45/157) genotipo *s2/m2* y el 3,8% (6/157) *vacA s1/m2*.

Los genes *cagA* y *cagE* se encontraron en el 73% y 74% de los aislamientos estudiados (cuadro 2). En el cuadro 3 se presentan las frecuencias de las diferentes combinaciones alélicas para los genes *vacA*, *cagA* y *cagE*. Se observó una asociación importante entre la presencia de los genes *cagA* y *cagE* y el genotipo *vacA s1m1*, pues el 98% (100/102) de las cepas *vacAs1m1* presentó un genotipo *cagA* positivo/*cagE* positivo y el 84,6% (33/39) de los aislamientos *vacAs2m2* presentó un genotipo *cagA* negativo/*cagE* negativo ($p<10^{-6}$). En este análisis se excluyeron los

genotipos heterogéneos *vacA s1m2*, *cagA* positivo/*cagE* negativo y *cagA* negativo/*cagE* positivo.

En los aislamientos analizados en este estudio se encontró un predominio de cepas con genotipo *vacA s1m1/cagA* positivo/*cagE* positivo (100/157, 63,7%). Este genotipo refleja la producción de una citotoxina *vacA* funcional y la presencia del *cag PAI*, características asociadas con una mayor virulencia de la bacteria por lo que las cepas con este genotipo se denominaron cepas citotóxicas. 21,0% (33/157) de las cepas analizadas presentó genotipo no citotóxico *vacA s2m2/cagA* negativo/*cagE* negativo; en 15,3% (24/157) de las cepas estudiadas se encontraron otros genotipos (cuadro 3).

El 75% de las cepas presentó el gen *oipA* y el 48% el gen *babA2* (cuadro 2). Se observó una mayor frecuencia del gen *oipA* en cepas citotóxicas (81%, 69/85) en comparación con la observada en cepas no citotóxicas (52%, 13/25) ($p=0,003$). La prevalencia del gen *babA2* en cepas no citotóxicas fue baja (12%, 3/25), mientras que el 58% (49/85) de cepas citotóxicas fue *babA2* positivo, esta diferencia fue significativa ($p=0,0001$) (no se muestran los datos).

La distribución de cepas con genotipos citotóxico y no citotóxico en las patologías asociadas con la infección por *H. pylori* se presenta en la figura 1. Se encontró una mayor prevalencia de cepas citotóxicas en pacientes con cáncer (84%), metaplasia (91%) y úlcera (81%) en comparación con la observada en pacientes con gastritis no atrófica (50%) ($p=0,002$, $p=0,008$ y $p=0,007$, respectivamente).

La distribución de *babA2* y *oipA* fue muy similar en todas las patologías (figura 2). Tampoco se observaron diferencias significativas en la

Cuadro 3. Frecuencias de las diferentes combinaciones alélicas encontradas para los genes *vacA*, *cagA* y *cagE* en los aislamientos de *H. pylori*.

Gen	<i>cagA</i> positivo/ <i>cagE</i> positivo n (%)	<i>cagA</i> negativo/ <i>cagE</i> negativo n (%)	<i>cagA</i> positivo/ <i>cagE</i> negativo n (%)	<i>cagA</i> negativo/ <i>cagE</i> positivo n (%)	Total (%)
<i>s1m1</i>	100 (94,0)	2 (2,0)	1 (1)	3 (3)	106
<i>s2m2</i>	6 (13,3)	33 (73,3)	2 (4,4)	4 (9)	45
<i>s1m2</i>	5 (83,3)	1 (16,7)	0	0	6

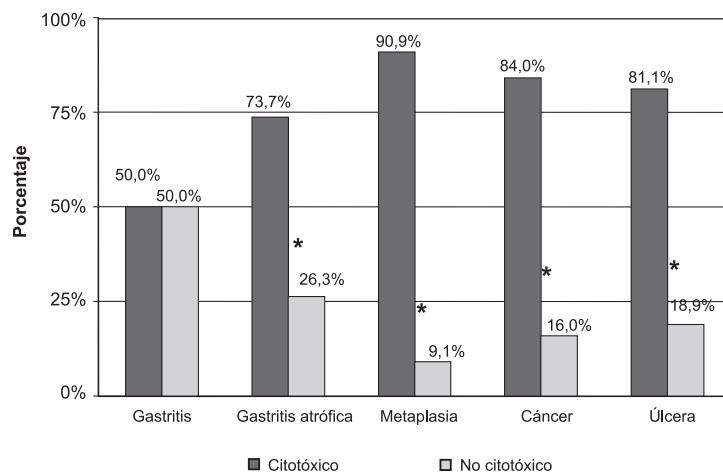


Figura 1. Frecuencia de cepas con genotipo citotóxico (*vacAs1m1/cagA* positivas/*cagE* positivas) y no citotóxico (*vacAs1m1/cagA* negativas/*cagE* negativas) en las diferentes patologías gastroduodenales.

* p<0,005

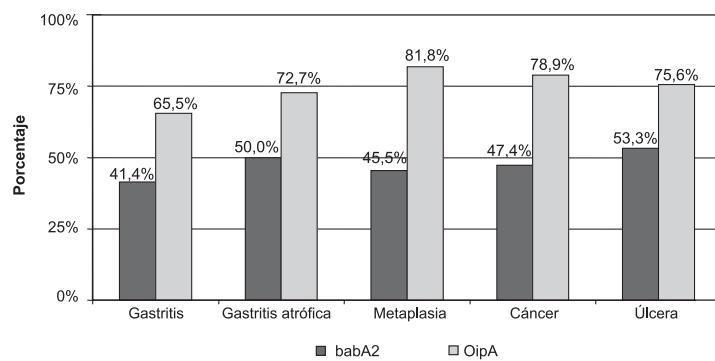


Figura 2. Frecuencia de los genotipos *babA2* y *oipA* en diferentes patologías gastroduodenales.

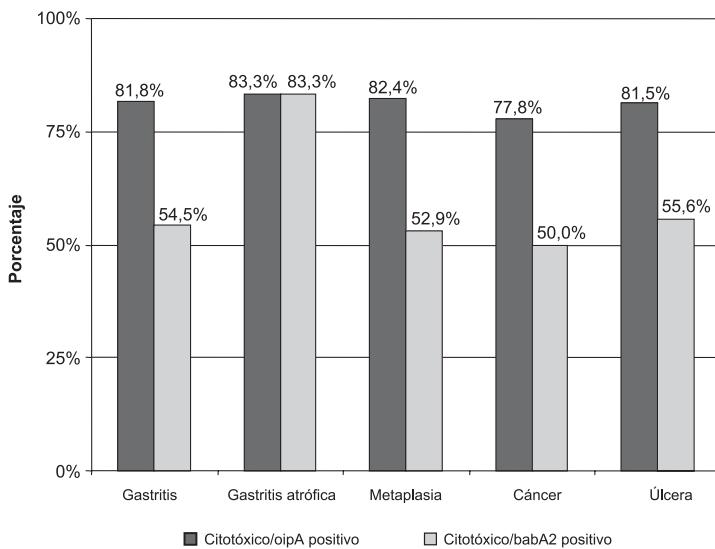


Figura 3. Frecuencia de cepas citotóxicas *oipA* positivas o *babA2* positivas en las diferentes enfermedades gastroduodenales.

frecuencia de cepas citotóxicas *oipA* positivas o *babA2* positivas entre las diferentes enfermedades gastroduodenales (figura 3).

Discusión

En los aislamientos de *H. pylori* caracterizados en este estudio se encontró una alta frecuencia de cepas *cagA* positivo y *cagE* positivo (73% y 74%, respectivamente) y una asociación importante entre estos dos genes, lo que sugiere que la mayoría de los aislados de esta población tiene un isloite PAI-*cag* completo y potencialmente funcional. 3,6% de las cepas presentó un isloite de patogenicidad atípico, frecuencia similar a la reportada en poblaciones de Francia (24), Japón (25), Costa Rica (26), México (27) y Colombia (12,21,28). Debido al bajo número de casos, un eventual papel patogénico de cepas con estos genotipos particulares, no se puede estimar con certeza. Al igual que en estudios anteriores, la presencia del isloite de patogenicidad *cag* se correlacionó con una mayor actividad citotóxica definida por el genotipo *vacA* s1/m1 (29,30).

Los análisis de secuencia genómica de *H. pylori* han revelado una alta proporción (1%) de genes que codifican proteínas de membrana externa (31). Debido a esto, ha surgido interés en evaluar el papel de estas proteínas en la patogénesis asociada a la bacteria. Una de estas moléculas es una proteína proinflamatoria de 34 kd codificada por el gen *oipA* (14). La presencia de este gen en cepas asiáticas se asocia con la presencia de *cagA* y con inducción de altos niveles de IL-8 en cocultivos con células epiteliales (14), lo que sugiere un posible papel de *oipA* en la virulencia bacteriana. En este trabajo, la prevalencia del gen *oipA* fue alta (74,5%) y su presencia, sólo o en combinación con *cagA* y *vacA*, no se correlacionó con el resultado clínico. Algunos investigadores han descrito dentro del gen *oipA* una región en la secuencia señal que presenta repeticiones CT (14). La presencia de un número determinado de repeticiones es necesaria para la síntesis de la proteína, por lo tanto, es un indicativo de la funcionalidad del gen. En un reporte reciente, Ando *et al.* no encontraron diferencias en los patrones de repeticiones CT en la secuencia señal del gen *oipA* en aislamientos

de *H. pylori* de Holanda y el resultado clínico de la infección (32). Estos autores encontraron que el 96% (89/93) de las cepas *cagA* positivas presentaba el gen *oipA* funcional, mientras que ninguna de las 16 cepas *cagA* negativas tenía el gen *oipA* funcional. En nuestro estudio encontramos una alta prevalencia de cepas *cagA* positivo/*oipA* positivo (81%), lo que sugiere que la mayoría de cepas citotóxicas tiene el gen *oipA* funcional; sin embargo, el 52% (13/26) de las cepas *cagA* negativas portaba el gen *oipA*, probablemente en muchas de estas el gen no sea funcional. Recientemente, Yamaoka (33) evaluó una población de cepas de Estados Unidos y Colombia y encontró que entre varios factores de virulencia sólo el gen *oipA* funcional se asociaba con mayor densidad de la bacteria, mayor inflamación y presencia de úlcera duodenal. Sin embargo, la presencia de *oipA* fue relativamente alta en gastritis (64%) en comparación con las frecuencias observadas en úlcera (88%) y cáncer (83%). Considerando nuestros resultados y los estudios de Ando y Yamaoka, la utilidad de *oipA* como marcador de virulencia es limitada.

La adherencia de *H. pylori* al epitelio gástrico juega un papel clave en la liberación eficiente de factores de virulencia (34). Gerhard *et al.* (15) reportaron que la presencia de *babA2* podría ser un buen indicador de la habilidad de las bacterias para expresar la adhesina de unión a antígenos lewisB (BabA); además, encontraron una asociación significativa entre la detección de *babA2* en aislamientos provenientes de la población alemana y la presencia de úlcera duodenal y adenocarcinoma gástrico. En un estudio posterior, Prinz *et al.* (35) reportaron una importante correlación entre el genotipo *vacAs1/cagA* positivo y *babA2*, ya que el 81% de cepas *cagA* positivas/*vacA* s1 portaban también *babA2*. En nuestro estudio, la frecuencia de *babA2* no fue tan alta (48%), no se correlacionó con la presencia de *cagA* o *vacAs1* pues apenas el 57% de las cepas citotóxicas portaba *babA2*; ni se asoció con alguna patología. Estos resultados son similares a los reportados por Kim *et al.* (36), quienes evaluaron el genotipo *babA* en cepas coreanas y no encontraron correlación con mayor riesgo de enfermedad. En Japón se reporta una prevalencia de *babA2* mucho mayor (84,9%),

sin asociación significativa entre su presencia y el resultado clínico de la infección (37).

En contraste con nuestros resultados, recientemente Zambon *et al.* (38) analizaron la asociación de *babA2* con gastritis, úlcera péptica o metaplasia intestinal en 167 individuos infectados en Italia. Aunque se detectó *babA2* sólo en el 36% de las cepas, su presencia se asoció significativamente con *cagA*, *vacA* y *oipA*. En este estudio las cepas con genotipo *babA2* positivo, *cagA* positivo y *vacA s1m1* se asociaron con un mayor riesgo de desarrollar metaplasia intestinal, mientras que en individuos portadores de cepas con genotipo *cagA* negativo, *babA2* negativo, *vacA s2m2* esta condición se presentó rara vez (<10%). Oliveira *et al.* (39) analizaron los genes *babA2* y *cagA* en cepas de *H. pylori* provenientes de 208 pacientes de Brasil con cáncer gástrico, úlcera duodenal o gastritis. La frecuencia de cepas *babA2* (46,1%) y *cagA* (79,8%) fue similar a la de nuestro estudio; sin embargo, reportan una asociación fuerte e independiente entre la presencia *babA2* y un mayor riesgo de cáncer gástrico y úlcera péptica, pero el valor de riesgo relativo para las cepas *cagA* positivas fue mayor que el de *babA2* (39). En una población de China con alta incidencia de cáncer gástrico, la frecuencia de cepas *babA2* positivas fue del 79,8%, y se asoció con inflamación crónica intensa, atrofia glandular y metaplasia intestinal en el antró y con aumento en la proliferación celular epitelial (16). Los resultados de estos estudios sugieren que la expresión diferencial de la adhesina *babA2* podría correlacionarse con las diferencias en incidencia de cáncer gástrico en diferentes regiones geográficas. Yamaoka *et al.* reportan relación entre la presencia de *babA2* y con cambios histológicos como metaplasia intestinal y atrofia (33,40); sin embargo, no logran mostrar su utilidad como marcador de riesgo de enfermedad. En conjunto, estos resultados no soportan la hipótesis de que la tipificación de *babA2* aumente el poder para discriminar entre cepas *cagA* positivas aquellas con potencial ulcerogénico o carcinogénico en nuestra población.

En conclusión, en este trabajo se evaluaron varios de los genes que se expresan diferencialmente

entre cepas y que, por lo tanto, podrían conferir una mayor capacidad de adaptación a la bacteria y, eventualmente, favorecer el desarrollo de cáncer gástrico o úlcera péptica. No se encontraron evidencias que sugieran que los genes *babA2* o *oipA* puedan servir como marcadores de ulcerogénesis o carcinogénesis en esta población, solos o en asociación con *cagA*, *cagE* o *vacA*.

Agradecimientos

Los autores agradecen al doctor Oscar Gutiérrez del Departamento de Medicina Interna de la Universidad Nacional por su colaboración en la obtención de las muestras.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Financiación

Este trabajo fue financiado por la Embajada del Canadá con fondos de la Carrera Terry Fox, COLCIENCIAS (Contrato 2101-04-11827) y el Instituto Nacional de Cancerología (Recursos de Inversión Código 4103038-15).

Referencias

1. International Agency for Research on Cancer (IARC). Working group IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. 61. Lyon (France): IARC; 1994.
2. Correa P. Bacterial infections as a cause of cancer. J Natl Cancer Inst 2003;95:E3.
3. Holcombe C. *Helicobacter pylori*: the African enigma. Gut 1992;33:429-31.
4. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Annu Rev Microbiol 2000;54:615-40.
5. Atherton JC. *Helicobacter pylori* virulence factors. Br Med Bull 1998;54:105-20.
6. Phadnis SH, Ilver D, Janzon L, Normark S, Westblom TU. Pathological significance and molecular characterization of the vacuolating toxin gene of *Helicobacter pylori*. Infect Immun 1994;62:1557-65.
7. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of

- specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995;270:17771-7.
8. **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 USA* 1996;93:14648-53.
 9. **Sharma SA, Tummuru MK, Blaser MJ, Kerr LD.** Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor-kappa B in gastric epithelial cells. *J Immunol* 1998; 160:2401-7.
 10. **Graham DY, Yamaoka Y.** Disease-specific *Helicobacter pylori* virulence factors: the unfulfilled promise. *Helicobacter* 2000;5(Suppl.1):S3-9.
 11. **Höcker M, Hohenberger P.** *Helicobacter pylori* virulence factors-one part of a big picture. *Lancet* 2003;362:1231-3.
 12. **Cittelly DM, Huertas MG, Martinez JD, Oliveros R, Posso H, Bravo MM et al.** *Helicobacter pylori* genotypes in non atrophic gastritis are different of the found in peptic ulcer, premalignant lesions and gastric cancer in Colombia. *Rev Med Chil* 2002;130:143-51.
 13. **Day AS, Jones NL, Lynett JT, Jennings HA, Fallone CA, Beech R et al.** *cagE* is a virulence factor associated with *Helicobacter pylori*-induced duodenal ulceration in children. *J Infect Dis* 2000;181:1370-5.
 14. **Yamaoka Y, Kwon DH, Graham DY.** A M(r) 34,000 proinflammatory outer membrane protein (*oipA*) of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97: 7533-8.
 15. **Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Boren T, Rad R, Schepp W et al.** Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:12778-83.
 16. **Yu J, Leung WK, Go MY, Chan MC, To KF, Ng EK et al.** Relationship between *Helicobacter pylori* *babA2* status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. *Gut* 2002;51:480-4.
 17. **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;20:1161-81.
 18. **Cittelly DM, Henao SC, Martínez JD, Orozco O.** Detección de *Helicobacter pylori* en Colombia: Diferentes metodologías aplicadas a su estudio en una población de alto riesgo de Cáncer Gástrico. *Rev Colomb Gastroenterol* 2001;3:64-9.
 19. **van Doorn LJ, Figueiredo C, Rossau R, Jannes G, van Asboeck M, Sousa JC et al.** Typing of *Helicobacter pylori* *vacA* gene and detection of *cagA* gene by PCR and reverse hybridization. *J Clin Microbiol* 1998;36:1271-6.
 20. **Yamaoka Y, Kodama T, Kita M, Imanishi J, Kashima K, Graham DY.** Relation between clinical presentation, *Helicobacter pylori* density, interleukin 1beta and 8 production, and *cagA* status. *Gut* 1999;45:804-11.
 21. **Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY.** Relationship between *Helicobacter pylori* *iceA*, *cagA*, and *vacA* status and clinical outcome: studies in four different countries. *J Clin Microbiol* 1999;37:2274-9.
 22. **Prinz C, Schoniger M, Rad R, Becker I, Keiditsch E, Wagenpfeil S et al.** Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during chronic gastric inflammation. *Cancer Res* 2001;61:1903-9.
 23. **Fujimoto S, Marshall B, Blaser MJ.** PCR-based restriction fragment length polymorphism typing of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1994;32:331-4.
 24. **Audibert C, Buruoa C, Janvier B, Fauchere JL.** Implication of the structure of the *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island in induction of interleukin-8 secretion. *Infect Immun* 2001;69:1625-9.
 25. **Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T, Ogura K, Kanai F, Kato N et al.** Structure of *cag* pathogenicity island in Japanese *Helicobacter pylori* isolates. *Gut* 1999;44:336-41.
 26. **Occhialini A, Marais A, Urdaci M, Sierra R, Muñoz N, Covacci A et al.** Composition and gene expression of the *cag* pathogenicity island in *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric carcinoma and gastritis patients in Costa Rica. *Infect Immun* 2001;69:1902-8.
 27. **Morales-Espinosa R, Castillo-Rojas G, Gonzalez-Valencia G, Ponce de León S, Cravioto A, Atherton JC et al.** Colonization of Mexican patients by multiple *Helicobacter pylori* strains with different *vacA* and *cagA* genotypes. *J Clin Microbiol* 1999;37:3001-4.
 28. **Hsu PI, Hwang IR, Cittelly D, Lai KH, El-Zimaity HM, Gutierrez O et al.** Clinical presentation in relation to diversity within the *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island. *Am J Gastroenterol* 2002;97: 2231-8.
 29. **van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W et al.** Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998;115:58-66.
 30. **van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Blaser MJ, Quint WG.** Distinct variants of *Helicobacter pylori* *cagA* are associated with *vacA* subtypes. *J Clin Microbiol* 1999;37:2306-11.
 31. **Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD et al.** The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997;388:539-47.
 32. **Ando T, Peek RM, Pride D, Levine SM, Takata T, Lee YC et al.** Polymorphisms of *Helicobacter pylori*

- HP0638 reflect geographic origin and correlate with *cagA* status. *J Clin Microbiol* 2002;40:239-46.
33. Yamaoka Y, Kikichi S, El-Zimaity H, Gutierrez O, Osato MS, Graham DY. Importance of *Helicobacter pylori* *oipA* in clinical presentation gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterology* 2002;123:414-24.
 34. Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET et al. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998;279:373-7.
 35. Prinz C, Schöniger M, Rad R, Becker I, Keiditsch E, Wagenpfeil S et al. Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during chronic gastric inflammation. *Cancer Res* 2001;61:1903-9.
 36. Kim SY, Woo CW, Lee YM, Son BR, Kim JW, Chae HB et al. Genotyping CagA, VacA subtype, IiceA1, and BabA of *Helicobacter pylori* isolates from Korean patients, and their association with gastroduodenal diseases. *J Korean Med Sci* 2001;16:579-84.
 37. Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y, Ishizuka J, Kato M, Asaka M. Clinical relevance of the *babA2* genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001;39:2463-5.
 38. Zambon CF, Navaglia F, Basso D, Rugge M, Plebani M. *Helicobacter pylori* *babA2*, *cagA*, and *s1 vacA* genes work synergistically in causing intestinal metaplasia. *J Clin Pathol* 2003;56:287-91.
 39. Oliveira AG, Santos A, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AM, Oliveira CA et al. *babA2*- and *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains are associated with duodenal ulcer and gastric carcinoma in Brazil. *J Clin Microbiol* 2003;41:3964-6.
 40. Yamaoka Y, Soucek J, Odenbreit S, Haas R, Arnqvist A, Borén T et al. Discrimination between cases of duodenal ulcer and gastritis on the basis of putative virulence factors of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2002;40:2244-6.