

ARTICULO ORIGINAL

Utilidad del jugo gástrico en el diagnóstico de infección por helicobacter pylori.

Parte I: correlación entre los hallazgos histológicos y los hallazgos en el jugo gástrico

Laguens R.M.³, Golijow C.D.¹, Abba M.¹, Collura J.E.², Dioguardi R.², Lequerica J.², Marrone R.², Camaño M.²

¹Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA), Fac. Cs. Veterinarias, UNLP. Calle 60 y 118 S/N, B1900AVW, Argentina. ²Centro Gastroenterológico Platense. Calle 3 n° 1096, 1900, La Plata, Argentina. ³Cátedra de Patología B, Fac. Cs. Médicas, UNLP. Calle 60 y 120, 1900, La Plata, Argentina

INTRODUCCIÓN

Estudios anteriores, hemos comprobado que la prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos con mucosas gástricas sin alteraciones o con una leve gastritis, llegaba al 76,19%, mientras que en pacientes con daño de la mucosa de moderado a severo, la prevalencia de la infección llegaba al 100%. Aún más, pudimos determinar que existía una muy fuerte asociación entre la intensidad del daño histológico de la mucosa y la presencia del factor de virulencia CagA.

Aunque la infección por *H. pylori* cursa generalmente de forma asintomática, casi todas las personas infectadas por este bacilo presentan, en algún momento de su vida, inflamación gástrica. La infección por *H. pylori* es la causa principal del desarrollo de úlcera péptica, la que afecta aproximadamente al 15% de los pacientes portadores (Toljamo y col., 2002; Crespo y Suh, 2001).

La infección por *H. pylori* induce la gastritis superficial crónica, la que se caracteriza por presentar infiltración mononuclear y polinuclear de la mucosa, con la consecuente injuria de las células epiteliales. En los Estados Unidos, el patrón de inflamación gástrica más predominante es la que involucra al antro, encontrándose más estrechamente ligado a la úlcera de duodeno. Sin embargo, en los países en desarrollo el tipo de inflamación predominante es la pangastritis, la que ha sido asociada tanto a la úlcera como al carcinoma gástrico (Atherton y Blase, 1997).

Considerando que el jugo gástrico baña uniformemente la superficie mucosa del estómago y, por lo tanto, podrían transferirse a él algunos signos sugerentes o indicativos de daño inflamatorio como también algunas formas bacilares o cocoides de *H. pylori*, se estudiaron 149 muestras de jugo gástrico obtenido de otros tantos pacientes dispépticos sometidos a una endoscopia alta, determinando la presencia o ausencia de células inflamatorias y la presencia o ausencia de estructuras bacterianas compatibles con *H. pylori*, correlacionando los hallazgos con los obtenidos de biopsias antrales obtenidas simultáneamente durante el mismo acto endoscópico.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Selección de pacientes: Se obtuvieron muestras de jugo gástrico y biopsias antrales de 149 pacientes, 89 mujeres y 60 varones, de entre 32 y 74 años de edad (media: 56 años para mujeres y 48 años para varones), que fueron sometidos a una video-esófago-gastro-duodenoscopia por presentar síntomas dispépticos que ameritaban este tipo de estudio.

Obtención de jugo gástrico: De cada paciente se obtuvo mediante aspiración con una jeringa, entre 5 y 10 ml de jugo gástrico.

Obtención de biopsias: Luego de la aspiración del jugo gástrico, se obtuvo una muestra de mucosa antral al azar mediante una pinza de biopsia.

Procesamiento del jugo gástrico: Inmediatamente de obtenido el jugo gástrico, se adicionó a la jeringa utilizada un dispositivo plástico comercial (Cytoshuttle®) consistente en un envase de material plástico conteniendo un filtro de nitrocelulosa de 20 mm. de diámetro a través del cual se hizo pasar el líquido, reteniéndose en la membrana los elementos formes del jugo, y descartándose la fase líquida. Lo retenido en la membrana se transfirió por simple contacto a un portaobjetos, según instrucciones del fabricante.

Sobre la impronta así obtenida se realizó una tinción con colorante de Giemsa con técnica rápida, sumergiendo los extendidos en la solución colorante y sometiéndolos a la acción de un horno a microondas por espacio de 20 segundos.

Procesamiento del material de biopsia: Inmediatamente después de obtenida la muestra, la misma se fijó en solución de formaldehído tamponado 10% (pH 6.8) durante 20 horas, se incluyó en Paraplast® y se obtuvieron cortes de micrótopo a 4 μ m de espesor. Un corte fue coloreado con hematoxilina y eosina y otro corte alternativo, luego de desparafinado, se coloreó con solución de Giemsa por 30 segundos en un horno de microondas.

RESULTADOS

Hallazgos histológicos: Del análisis histológico de las 149 muestras, se detectó la presencia de una gastritis severa en actividad en 64 de ellas (42,95%), una gastritis moderada en 7 (4,70%), una gastritis discreta a mínima en 45 (30,20%) y una mucosa sin alteraciones morfológicas en las 33 muestras restantes (22,15%). No existieron diferencias en los porcentajes de cada imagen histológica entre ambos sexos.

Los criterios diagnósticos utilizados fueron principalmente la presencia de elementos inflamatorios en la lámina propia, considerándose una gastritis mínima a aquella lesión con una baja acumulación de linfocitos y células mononucleares en el tejido conectivo, sin daño de las estructuras epiteliales, una gastritis moderada a aquella caracterizada por la presencia de un exudado linfo-mononuclear más importante, con discreta exocitosis transepitelial y una gastritis severa a la que presentaba un muy importante infiltrado linfo-mononuclear que predominaba en el cuadro histológico, con exocitosis transepitelial importante, y presencia de otros elementos celulares en diferentes proporciones, como leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y eosinófilos, mastocitos prominentes, sumados a una alteración citopática de los extremos apicales de las células epiteliales foveolares, que aparecían "desfleadas". No se tuvo en cuenta el grado de atrofia glandular ni la presencia de células caliciformes aisladas en los epitelios glandular y superficial. En ninguno de estos pacientes se detectó una metaplasia enteroide importante. Los resultados se resumen en la Tabla I.

intensidad de gastritis	número de casos	porcentaje	Helicobacter pylori
severa	64/149	42,95%	59/71 (83,09%)
moderada	7/149	4,70%	
mínima	45/149	30,20%	
ausencia de lesión	33/149	22,15%	14/78 (17,95%)
TOTAL			79/149 (48,99%)

Tabla I: Correlación entre la intensidad de la gastritis y la presencia de Helicobacter pylori. Los casos se dividieron en dos grupos: uno que comprendía las gastritis de moderadas a severas y otro que abarcaba las gastritis leves y los casos en los que no se detectó lesión morfológica.

Hallazgos citológicos: En el análisis microscópico de las 149 muestras evaluadas, se detectaron células inflamatorias en 115 de ellas, siendo las mismas linfocitos, leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y leucocitos polimorfonucleares eosinófilos, entremezclados con células epiteliales. Adicionalmente, se apreció en 6 casos la presencia de regular cantidad de eritrocitos. Las concentraciones de células oscilaron entre muy escasa cantidad en relación al número de células epiteliales y un amplio predominio de células inflamatorias sobre la población de células epiteliales, existiendo además un incremento de células epiteliales descamadas en los preparados con abundante cantidad de células inflamatorias.

Las 34 muestras citológicas que no presentaron células inflamatorias correspondieron en todos los casos a muestras con histología normal o de gastritis leve. Del total de 78 casos con mucosa sana o gastritis leve, se detectaron linfocitos en escasa proporción en 32, y un número mayor de linfocitos acompañados por regular cantidad de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos en los 12 restantes. Del total de 71 casos de gastritis moderada e intensa, todos presentaron elementos inflamatorios en los preparados citológicos. Existió un neto predominio de linfocitos en elevada proporción, agregándose en 64 casos una regular cantidad de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, de los cuales, 7 presentaron también leucocitos polimorfonucleares eosinófilos. 6 de estas muestras presentaron también eritrocitos, correspondiendo histológicamente a gastritis severas en actividad. Los resultados se resumen en la Tabla II.

	elementos agregados	linfocitos	neutrófilos	eritrocitos	<i>Helicobacter pylori</i>
gastritis leve a moderada	44 de 78	44 de 78	12 de 78	0 de 78	34 de 78 (43,59%)
gastritis moderada a severa	71 de 71	71 de 71	64 de 71	6 de 71	66 de 71 (92,96%)
TOTAL	115 de 149	115 de 149	76 de 149	6 de 149	100 de 149 (67,11%)

Tabla II: Hallazgos citológicos y correlación con la presencia de *Helicobacter pylori*. La cantidad de elementos agregados fue proporcional a la intensidad de la lesión. Compárese con la Tabla I, pudiéndose apreciar que la cantidad de casos positivos para *H. pylori* fue mayor en el estudio citológico con respecto al histológico, pudiendo corresponder esta diferencia a un muestreo más representativo.

Determinación de *H. pylori* en el material de biopsia: Del total de 149 biopsias, sin discriminar la existencia e intensidad de lesión, 79 fueron positivas para *H. pylori* (48,99%). Se lograron visualizar estructuras correspondientes a *H. pylori* en 14 de las 78 muestras correspondientes a mucosa normal o con signos mínimos de gastritis (17,95%), mientras que de las 71 muestras con gastritis moderada y severa, 59 fueron positivas para *H. pylori* (83,09%).

Determinación de *H. pylori* en el jugo gástrico: Del total de 149 preparados citológicos examinados, 100 fueron positivos para *H. pylori* (67,11%). Separados los preparados en dos grupos, uno correspondiente a casos con mucosa normal o gastritis leve y el otro correspondiente a gastritis moderadas y severas, se detectó la presencia de *H. pylori* en 34 de las 78 muestras del primer grupo (43,59%) y en 66 de las 71 muestras del segundo grupo (92,96%).

DISCUSIÓN

Los resultados aquí obtenidos permiten afirmar que el análisis del jugo gástrico aporta una serie de datos que complementan los obtenidos a partir del estudio biopsico de la mucosa gástrica en pacientes dispépticos, aumentando porcentualmente las chances de una mejor determinación del status clínico-histológico de un paciente determinado y del status de infección con *H. pylori*.

El incremento de detección de *H. pylori* en el jugo gástrico, que llegó a un 67,11%, fue notoriamente superior al encontrado mediante su determinación en el material de biopsia (48,99%), considerados estos porcentajes sobre el total de muestras examinadas. Sin embargo, al discriminar por grupos en aquellos casos con muestras de mucosa antral histológicamente normales o gastritis mínimas y en casos con un daño inflamatorio importante de la mucosa, se detectaron importantes incrementos en los porcentajes de positividad. Así, de sólo un 17,95% de positividad para el primer grupo evaluado histológicamente, se pasa a un 43,59% mediante la determinación en los preparados citológicos, y de un 83,09% en el segundo grupo, se pasó a un 92,96%. Es posible que estas diferencias se deban al muestreo efectuado: mientras que la biopsia representa a un pequeño sector de la mucosa gástrica, elegido al azar, el jugo gástrico representaría lo que estaría aconteciendo en una mayor superficie. Estos datos están más de acuerdo con los habitualmente citados en la bibliografía (Louw y col., 2001).

Además del incremento porcentual en positividad para *H. pylori*, el análisis citológico del jugo gástrico ha brindado una mayor información sobre el status inflamatorio de la mucosa. Es lógico suponer que ante una gastritis que afecte diferentes sectores de la mucosa, de intensidades variables, las células del exudado inflamatorio atraviesen el epitelio y se vuelquen al jugo gástrico. La elevada proporción de elementos inflamatorios, tanto agudos como linfomonocitarios encontrados en los jugos gástricos de pacientes con patologías inflamatorias severas de la mucosa parecen confirmar esta suposición. Aún más, se han detectado estos mismos tipos celulares inflamatorios en una importante proporción de casos con mucosa normal o con cambios inflamatorios mínimos. Esto permite especular también que el muestreo biopsico al azar no es en todos los casos, suficientes como para realizar un diagnóstico del verdadero status inflamatorio de la mucosa. Debe tenerse en cuenta que todos los pacientes enrolados en el presente estudio fueron sometidos a una endoscopia alta por presentar sintomatología, por lo que no es de extrañar que la incidencia real de gastritis sea en ellos mayor que la detectada por un muestreo biopsico al azar.

Es posible, por lo tanto, plantear la posibilidad de que aquellos pacientes con leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y eventualmente también, eosinófilos en sus jugos gástricos, presenten una gastritis en actividad, que en muchos casos ha sido confirmada histológicamente, pero en otros casos, este diagnóstico se escapó al examen histológico. En otras palabras, mediante el estudio conjunto del material biopsico y de la citología del jugo gástrico, sería posible disminuir los falsos negativos que pueden presentarse a la hora de evaluar el status de infección por *H. pylori* y el status inflamatorio de la mucosa en este tipo de pacientes. Inclusive, la presencia de eritrocitos en el jugo gástrico permite abrir la posibilidad de especular con la existencia de una gastritis erosiva o cuadros ulcerosos asociados a la condición clínica del paciente.

Por último, la alta correlación entre los hallazgos biopsicos y lo encontrado en el análisis del jugo gástrico, nos permiten proponer al simple estudio del jugo gástrico como una alternativa válida para el seguimiento del paciente en el tiempo y para la determinación de erradicación a largo plazo de la infección por *H. pylori*, sin necesidad de realizar una endoscopia, abaratando costos.

Estos resultados abren nuevos caminos de investigación en el estudio del paciente dispéptico, permitiendo plantear la hipótesis de que estos mismos hallazgos pueden ser corroborados con otros métodos de estudio, como por caso, técnicas de análisis de ADN bacteriano, lo que además, puede llevar no solamente a la determinación de infección, sino también a la genotipificación de cepas virulentas.

Bibliografía:

1. Crespo A, Suh B. 2001. *Helicobacter pylori* infection: epidemiology, pathophysiology, and therapy. Arch Pharm Res 24(6):485-98
2. Louw JA, Kidd MS, Kummer AF, Taylor K, Kotze U, Hanslo D. 2001. The relationship

between *Helicobacter pylori* infection, the virulence genotypes of the infecting strain and gastric cancer in the African setting. *Helicobacter* 6(4):268-73

3. Toljamo KT, Niemela SE, Karttunen TJ, Karttunen RA, Karvonen AL, Piiparinen H, Lehtola JK. 2002. The role of Herpes simplex and *Helicobacter pylori* infection in the etiology of persistent or recurrent gastric erosions: a follow-up study. *Dig Dis Sci* 47(4):818-22