



Artículo original

Evaluación de los niveles de IgA secretora anti-*Helicobacter pylori* en población infantil venezolana

María Eugenia Cavazza^{a*}, María Correnti^{b,c}, Diana Ortiz^a, Marianella Perrone^c
Georgette Daoud^d, María Isabel Urrestarazu^a, Noris Serrano^a, Maira Avila^b

^aInstituto de Biomedicina, Ministerio de Salud, Universidad Central de Venezuela,

^bInstituto de Hematología y Oncología, Ministerio de Salud

^cInstituto de Investigaciones Raúl Vicentelli, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela

^dHospital Miguel Pérez Carreño- IVSS
Caracas-Venezuela

Recibido 23 agosto de 2005; aceptado 30 de septiembre de 2005

Resumen: *Helicobacter pylori* está íntimamente asociado con el desarrollo de enfermedad úlcero-péptica y es un factor de riesgo en cáncer gástrico y MALToma. La IgA secretora es el principal anticuerpo en el sistema de las mucosas, jugando un papel importante como primera línea de defensa contra diferentes antígenos. El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de IgA secretora específica anti-*H. pylori* en saliva de un grupo de niños con gastritis crónica histológica. Se evaluaron 30 niños con dolor abdominal recurrente (13 hembras y 17 varones con edad de 2 -15 años, media 7,3 años) provenientes de una consulta privada de la ciudad de Caracas y 30 niños asintomáticos del ambulatorio de la Colonia Tovar. En ambos grupos se realizó evaluación clínica, determinación de IgG anti- *H. pylori* en suero y de IgAs anti-*H. pylori* en saliva (ELISA). En el grupo sintomático se obtuvieron biopsias gástricas para evaluación histopatológica y prueba rápida de ureasa. En este grupo 53% de los niños presentaron gastritis crónica. 30% fueron *H. pylori* positivo y 23% *H. pylori* negativo, 17% de los niños presentó gastritis crónica activa *H. pylori* positivo. Se observó una tendencia al aumento de los niveles de IgAs relacionado con la severidad del hallazgo histológico; siendo estos niveles significativamente ($p=0,0307$) más elevados en pacientes con gastritis crónica activa *H. pylori* positivos que en el resto del grupo estudiado. Además; estos valores fueron significativamente más altos ($p=0,0408$) en pacientes *H. pylori* positivos con gastritis crónica activa que en pacientes con gastritis crónica. Estos resultados sugieren que los anticuerpos IgA secretores en saliva pueden jugar un papel importante en la inmunidad gástrica frente a la infección por *H. pylori*, asociado a la cronicidad y fase activa de la gastritis.

Palabras clave : *Helicobacter pylori*, IgA secretora , gastritis, niños

Secretory IgA antibody levels against *Helicobacter pylori* in venezuelan children population

Abstract: *Helicobacter pylori* is associated with peptic ulcer disease and represents a risk factor in gastric cancer and maltoma. Secretory IgA, is the predominant gastrointestinal mucosal antibody, with an important effect against different antigens. The objective of this study was to measure the salival specific secretory IgA anti-*H.pylori* value in 30 children with chronic abdominal pain (13 female; 17 male, range 2-15 years old mean 7,3 years)and 30 children asymptomatic. Each child of the symptomatic group underwent clinical evaluation, serum IgG anti- *H. pylori*, salival IgAs anti-*H. pylori* (ELISA), gastric biopsy for histology, rapid urea test. Chronic gastritis was found in 53% (30% positive *H. pylori*, 23% negative *H. pylori*). Chronic active gastritis was detected in 17%, all positive for *H. pylori*. A significant tendency to increase secretory IgA levels, related to the severity of the histological gastric finding was observed ($p=0,0307$); which was significantly higher in children with positive *H. pylori* and chronic active gastritis than chronic gastritis ($p=0,0408$). These results probably reflect an important effect of the salival secretory IgA antibody in the gastric immunity against *H. pylori* infection associated with chronicity and activity of gastric infection.

Keywords : *Helicobacter pylori*, secretory IgA, gastritis, children

* Correspondencia:

E-mail: mcavazza@yahoo.com

Introducción

Helicobacter pylori es reconocido como agente causal de gastritis crónica, está íntimamente asociado con el desarrollo de úlcera péptica [1,2] y en algunos casos con carcinogénesis gástrica ya que es un factor de riesgo en cáncer gástrico y MALTomas [3]. Particularmente no se conoce por qué la inflamación gástrica que se desarrolla en presencia de la bacteria, persiste tiempo después de haber erradicado la misma. [4,5,6].

Muchos de los aspectos de la patogénesis y epidemiología de esta infección permanecen aún sin dilucidar. *H. pylori* coloniza el moco gástrico, para lo cual cuenta con estructuras especializadas (como flagelos), factores de adherencia (adhesinas) y factores de virulencia (ureasa, citotoxina vacuolizante), sobre los que recientemente se ha generado abundante información.

Helicobacter pylori es un bacilo gramnegativo en espiral que reside en la capa de la mucosa gástrica adyacente a las células epiteliales. Aunque no es invasor, causa inflamación de la mucosa gástrica con neutrófilos, polimorfonucleares y linfocitos. Los mecanismos de la lesión y la inflamación pueden estar relacionados en parte, con los productos de dos genes, *vacA* y *cagA*.

En Estados Unidos la prevalencia de infección va desde menos de un 10% en caucásicos menores de 30 años de edad a más de 50% en los mayores de 60 años. La prevalencia es más alta en no caucásicos e inmigrantes de países en desarrollo y se correlaciona inversamente con el nivel socioeconómico. La transmisión es de persona a persona, pero se desconoce la forma de propagación. La mayor parte de las infecciones son probablemente adquiridas en la infancia.

La infección aguda por *H. pylori* puede causar una enfermedad clínica transitoria caracterizada por náuseas y dolor abdominal que puede durar varios días y se relaciona con gastritis histológica aguda con neutrófilos polimorfonucleares. Después de que se resuelven estos síntomas, se piensa que la mayor parte progresa a infección crónica con inflamación caracterizada por inflamación difusa de la mucosa con neutrófilos polimorfonucleares y linfocitos. La inflamación puede estar limitada al epitelio gástrico superficial o extenderse de manera profunda en las glándulas gástricas, produciendo como resultado grados variables de atrofia glandular (gastritis atrófica) y metaplasia del epitelio gástrico a epitelio de tipo intestinal.

Aunque la infección crónica de *H. pylori* con gastritis está presente en 30 a 50% de la población, la mayoría son asintomáticos y no padecen secuelas. La infección por *H. pylori* está fuertemente relacionada con úlcera péptica, sin embargo; sólo el 15% de las personas con infección crónica desarrollan esta patología. La gastritis crónica por *H. pylori* se vincula con un aumento de 4 a 6 veces en el riesgo de adenocarcinoma gástrico y linfoma gástrico de célula B de grado bajo (linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa o MALToma). No hay evidencia convincente de

que la gastritis crónica vinculada con *H. pylori* sea una causa de síntomas dispépticos en los pacientes sin úlcera péptica.

La investigación de infección por *H. pylori* está de manera definitiva indicada en pacientes con úlcera péptica y MALToma gástrico, y también cada vez más, en pacientes con dispepsia y una historia familiar de cáncer gástrico.

Por otra parte, en el tejido de la mucosa, la IgA es la molécula predominantemente producida como dímeros, los cuales son transportados en vesículas endocíticas al ápice de las células epiteliales para producir el componente secretor [7] Luego, el clivaje proteolítico del componente secretor resulta en la liberación de la IgA secretora. Una asociación entre gastritis e incremento de la expresión del componente secretor ha sido bien reportado [8] y la infección por *H. pylori* también ha sido asociada con el incremento en la expresión del componente secretor por células gástricas.

El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar los niveles de IgA secretora específica anti- *H. pylori* en un grupo de niños con gastritis crónica infectados con *Helicobacter pylori* y otro grupo de niños con títulos IgG *H. pylori* positivos.

Materiales y Métodos

Población estudiada: Grupo de población infantil con gastritis crónica

Se evaluaron 30 pacientes de ambos sexos (13 hembras y 17 varones), con edades comprendidas entre 2 y 15 años de edad (media 7,3 años), residentes en la zona Metropolitana de Caracas que asistieron a consulta pediátrica privada por presentar sintomatología de dolor abdominal recurrente y vómitos. A cada paciente se le realizó evaluación clínica, toma de biopsia para evaluación histopatológica de esófago, estómago y duodeno, prueba rápida de la ureasa (CLOTtest Ballard Medical products, Draper, UTAH USA), serología para la determinación de IgG anti-*H. pylori* por ensayo inmunoenzimático indirecto de fase sólida (Kit ImmunoComb II PBS Organics) y determinación de anticuerpos IgA secretora específica anti- *H. pylori* en saliva a través de la técnica de ELISA.

Población infantil asintomática con IgG anti- H. pylori positivos

Se evaluaron 30 niños entre 1 y 14 años de edad (media 6 años) que asistieron a consulta en un ambulatorio rural de la Colonia Tovar, Estado Aragua. A todos los niños se les realizó una consulta médica pediátrica y se les tomó 5 mL de sangre periférica.

En todos los casos se pidió consentimiento del representante legal para realizar cualquier procedimiento.

Determinación de IgG anti *H. pylori*

Determinación serológica de IgG específica anti - *Helicobacter pylori*

Se utilizó el kit inmunoenzimático comercial (PYLORIS-SET EIA-G) de ORION. Los resultados fueron expresados en títulos de anticuerpos, tomando como positivos aquellos títulos mayores o iguales a 200 según recomendaciones del fabricante.

Determinación de IgA secretora total y específica anti *H. pylori* en saliva

Para la determinación de IgA secretora específica anti-*H.pylori* se recolectaron las muestras directamente de la boca de cada niño y fueron conservadas en tubos Vacutainer con EDTA a -20°C hasta su uso en el ensayo. Se empleó la técnica de ELISA en placas Nunc MaxiSorp. El antígeno de *Helicobacter pylori* utilizado fue preparado por sonicación a partir de cultivos obtenidos de biopsias de pacientes infectados con la bacteria. Se sensibilizó la placa con 2,5 µg por pozo del antígeno diluido en buffer de cobertura con pH 9.6 durante 2 horas a 37°C. Se utilizó como solución de bloqueo PBST-BSA 0,5% y se incubó 2 horas a 37°C. Las muestras de saliva se incubaron durante una hora a 37°C a una dilución 1/10 con PBST-BSA 0,5%. Luego se utilizó una Anti-IgA marcada con peroxidasa diluida 1/1000 en PBST-BSA 0,5% y fue incubada en estufa a 37°C por una hora. Por último se reveló con OPD y se leyó absorbancia a 492nm. Los valores positivos fueron determinados a partir de un punto de corte obtenido de la media estadística más dos desviaciones estándar de pacientes negativos para la infección.

Resultados

Los niños del grupo con gastritis crónica estudiados tenían edades comprendidas entre 2 y 15 años ($7,3 \pm 3,8$ años). El grupo perteneció al Graffar dos y tres según la clasificación Graffar modificada para Venezuela por Hernán Méndez Castellano.

El 43% (n=13) del grupo fue de sexo femenino y 57% (n=17) de sexo masculino. El 73 % de los niños refirieron antecedentes familiares con respecto a infección por *Helicobacter pylori*.

Con respecto al estudio histopatológico a partir de biopsias gástricas se encontró que en el 30 % de los niños (n=9) se reportó tejido normal, del 70 % restante 53 % (n=16) presentó gastritis crónica de los cuales 30 % (n=9) fueron *H. pylori* positivo y 23 % (n=7) *H. pylori* negativo, además se encontró que el 17 % (n=5) de los niños presentó gastritis crónica activa *H. pylori* positivo (Tabla 1).

A 46 % de los pacientes se les detectó *H. pylori* en el estudio histopatológico, 27% de las biopsias fueron positivas para la prueba de ureasa .

Por otra parte, en la determinación de IgA secretora específica anti-*H. pylori* en saliva se obtuvo un 40% de valores por encima del punto de corte establecido en estu-

dios previos [9] en el grupo infantil sintomático. En el grupo de asintomáticos el 59 % los niveles de IgA secretora anti *H. pylori* en niños con serología de IgG anti-*H.pylori* , fueron positivos y significativamente ($p=0.035$) más elevados que en los niños sintomáticos con títulos IgG anti-*H.pylori* negativos.

Tabla 1: Resultados histopatológicos de biopsias gástricas.

Estómago Normal	Gastritis crónica		Gastritis crónica activa	
	Hp+	Hp-	Hp+	Hp-
30% (n =9)	30% (n =9)	23% (n =7)	17% (n =5)	0% (n = 0)

Con respecto a la determinación de anticuerpos IgG específicos anti-*H. pylori* en este grupo de niños sintomáticos se encontró que el 47 % resultó positivo para la prueba, con títulos mayores o iguales a 200 U/ml. En el caso del grupo infantil asintomático el 59% de los niños evaluados obtuvieron títulos positivos de IgG sérica anti *H. pylori*, siendo las diferencias estadísticas no significativas (Tabla 2).

Tabla 2: Presencia de IgG anti- *H. pylori* en población infantil venezolana.

Serología (IgG anti- <i>H. pylori</i>)	Grupo asintomático (N=30)	Grupo sintomático (N=30)
Positivos	59 %	47 %
Negativos	41 %	53 %

La diferencia entre los niveles de IgA secretora entre pacientes con gastritis crónica *H. pylori* positivos y pacientes con gastritis *H. pylori* negativos no fue estadísticamente significativa (Figura 1). La comparación de los niveles de IgA secretora específica anti-*H. pylori* en pacientes con gastritis crónica activa *H. pylori* positivos y pacientes con estudio histopatológico normal no fue significativa. Sin embargo, se observa tendencia al aumento de los niveles de IgAs a medida

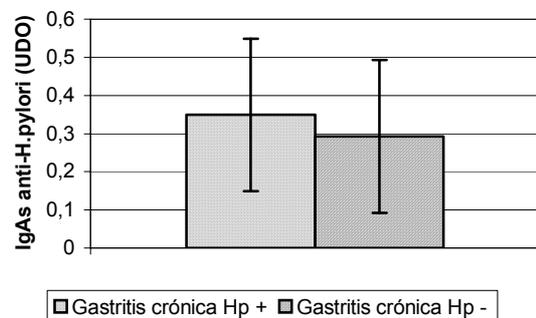


Figura 1. Niveles de IgAs específica anti-*Helicobacter pylori* en pacientes con gastritis crónica *H. pylori* positivos y negativos.

que empeora la patología gástrica siendo éstos significativamente ($p=0,0307$) más elevados en pacientes con gastri-

tis crónica activa *H. pylori* positivos que en el resto del grupo estudiado, además, estos niveles resultaron significativamente más altos ($p=0,0408$) en pacientes con gastritis crónica activa *H. pylori* positivos que en pacientes con gastritis crónica *H. pylori* positivos (Figura 2).

No se encontró asociación estadística entre niveles de IgA secretora específica anti-*H. pylori* de niños con gastritis crónica CLOtest positivo y negativo.

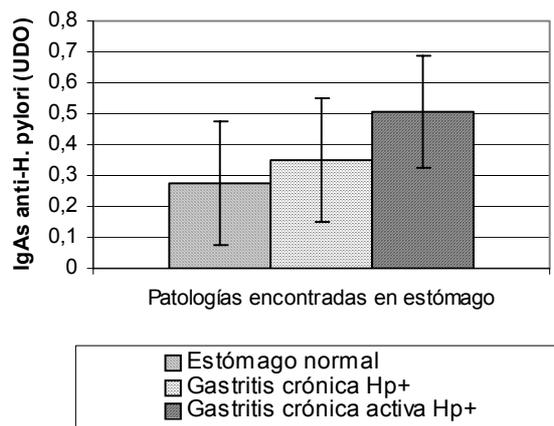


Figura 2. Niveles de IgAs específica anti-*Helicobacter pylori* con respecto al estudio histopatológico realizado en biopsias de estómago.

Discusión

En Venezuela existe una alta prevalencia de infección por *H. pylori*, estudios anteriores de nuestro grupo de investigación han evidenciado un 66% de seroprevalencia en poblaciones infantiles de bajo nivel socioeconómico [10] y variaciones de 40 a 90% en adultos de diferentes estados del país. Las condiciones socioeconómicas e higiénicas así como las características ambientales y genéticas de la población son factores determinantes en la adquisición de la infección.

Se encontró una alta seroprevalencia (47%) para *H. pylori* en el grupo de pacientes con gastritis con infección confirmada por histopatología. En el ambiente rural y población asintomática la seroprevalencia de IgG-anti *H. pylori* fue de 59 %. La prevalencia de infección encontrada fue elevada en ambos grupos infantiles estudiados.

Acerca de las vías de transmisión, existe aún incertidumbre, pero hay evidencias que indican como posibles fuentes de transmisión el agua, los gatos domésticos y recientemente se ha reportado la mosca doméstica como potencial vector y reservorio [11]. La bacteria ha sido cultivada a partir de heces humanas y de saliva aunque su hallazgo en heces ha sido cuestionado ya que los escasos estudios que lo han documentado no han sido del todo convincentes y la forma cocoide cultivada no se considera infectante, por lo que la vía fecal-oral es menos aceptada que la vía oral-oral o gastro-oral como posibles vías de transmisión. [12,13].

Se encontró una asociación entre la producción de IgAs anti-*H. pylori* y la forma activa de la gastritis crónica en pacientes *H. pylori* positivos. Los niveles más altos correspondieron a pacientes que presentaron gastritis crónica activa.

Por otra parte, la IgA secretora es la clase de inmunoglobulina predominante en el sistema de las mucosas y por lo tanto en el tracto gastrointestinal, jugando un papel importante como primera línea de defensa contra diferentes antígenos.

Individuos con deficiencias de IgA pueden mostrar una mayor frecuencia de infecciones gastrointestinales causadas por patógenos entéricos. Además también se ha reportado un marcado incremento en el desarrollo de patologías gástricas malignas en pacientes con deficiencias de IgA comparado con la población general [14].

La infección con *H. pylori* produce gastritis crónica y la sustancial producción de IgA específica. Histológicamente, *H. pylori* está asociado con gastritis crónica caracterizada por degeneración de la superficie epitelial e infiltración de células inflamatorias en la mucosa (linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos ocasionalmente). Esta bacteria coloniza el epitelio gástrico humano; primeramente, el organismo puede interactuar con células de la superficie epitelial, produciendo directamente la liberación de mediadores proinflamatorios (quimiocinas) luego; productos derivados de *H. pylori* pueden tener acceso a la mucosa estimulando directamente de manera no específica e involucrando una respuesta inmune específica que genera una variedad de citocinas. De esta manera, se produce la inducción de una respuesta inmune local, como consecuencia de esto, los pacientes pueden ser protegidos contra la reinfección [15]. Sin embargo; el papel de la inmunidad secretora en la colonización temprana de *H. pylori* ha sido bien sugerida como una protección temporal por anticuerpos IgA específica presentes.

En el presente estudio se encontró una asociación entre la producción de IgAs anti-*H. pylori* y la forma activa de la gastritis crónica en pacientes *H. pylori* positivos, encontrando niveles significativamente más altos en pacientes que presentaron gastritis crónica activa.

Por otra parte ha sido reportada una marcada reducción de la expresión de la cadena J en inmunocitos de la mucosa en pacientes con gastritis crónica en presencia de *H. pylori* [16]. La incorporación de la cadena J a la IgA es necesaria para contribuir en la efectividad de la inmunidad secretora [7,8] y la reducción en su expresión sugiere una alta proporción de inmunocitos IgA que están produciendo monómeros en contraste con una situación normal (16). Se ha reportado que la reducción de la expresión de la cadena J es común en enfermedades inflamatorias de la mucosa y lesiones crónicas [16], de manera que la repuesta local de IgA pudiera tener importancia en restringir la severidad de la inflamación.

La IgA secretora puede jugar un papel protector contra la colonización de *H. pylori* (17) en la niñez temprana o después de la erradicación terapéutica [18].

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que anticuerpos IgA secretores en saliva pueden jugar un papel importante en la inmunidad gástrica frente a la infección por *H. pylori*, asociado a la cronicidad y fase activa de la gastritis por lo que la determinación de IgA secretora pudiera ser un parámetro importante en el seguimiento y control de la enfermedad, lo cual además tendría valor en estudios en niños por ser una prueba no invasiva.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Proyecto Fonacit No. 96001408.

Referencias

- [1] Dixon M. *Helicobacter pylori* and chronic gastritis, p. 124-139. In B. Rathbone and R. Heatley (ed), *Helicobacter pylori* and gastroduodenal disease. Blackwell Scientific Publications, London, England. 1992.
- [2] Graham, D.Y., Klein, P.D; Opekun, A.R; Boutton, T.W). Effect on age on the frequency of active *Campylobacter pylori* infection diagnosed by the urea breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. *J Infect Dis* 1989; 157: 777-780.
- [3] Forman D and P. Webb. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: the significance of the problem, p 461-468. In R. Hunt and G. Tytgat (ed), *Helicobacter pylori: basic research to clinical cure*. Kluweer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1994.
- [4] Cayla R y col. Long term follow-up of chronic gastritis after persistent *Helicobacter pylori* eradication in duodenal ulcer patients. *Gastroenterology* 108:A68 (Abstrac). 1995.
- [5] Genta R, Lew and D Graham. Changes in the gastric mucosa following eradication of *Helicobacter pylori*. *Mod Pathol* 1993; 6:281-289.
- [6] Witteman E, Mravunac M, Beck, Hopman, Verschoor, Tytgat and R de Koning. 1995. Improvement of gastric inflammation and resolution of epithelial damage one year after eradication of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1993; 48:250-256.
- [7] Brandtzaeg P: Molecular and cellular aspects of the secretory immunoglobulin system. *APMIS* 1995,103:1-19.
- [8] Valnes K, Brandtzaeg P, Elgjo K, Stave R: Quantitative distribution of immunoglobulin-producing cells in gastric mucosa: relation to chronic gastritis and glandular atrophy. *Gut* 1996,27:505-514.
- [9] Ortiz D, Cavazza ME, López T, Avila M, Lecuna V, Correnti M, Perrone M. Determinación de los niveles de IgA secretora anti-*Helicobacter pylori* en saliva en población venezolana. *Enfermedades infecciosas y microbiología* 2001 Vol. 21 suplemento. (Abstrac).
- [10] Piñero,R., Urrestarazu,M., Serrano,N., Gonzalez,R., Olavarria, R., Moncada, J., Khassale,M., Poleo,J.R. Frecuencia de *Campylobacter pylori* en venezolanos aparentemente sanos y asintomáticos. *Gen* . 1989; 43:777-780.
- [11] Cave, Grübel P and L Huang. *Helicobacter pylori* Basic Mechanisms to Clinical Cure. Chapter 9. p68-74. Edited by Richard Hunt and Guido Tytgat. Kluwer Academic Publishers. 1998.
- [12] Lawrence M. Tierney, Jr, Stephen J. McPhee, Maxine A Papadakis. *Diagnóstico Clínico y Tratamiento*. 35ª edición. Editorial Manual Moderno.2000.
- [13] Mégraud F and Broutet N. The fecal-oral route a critical look. Chapter 7. p51-57. Edited by Richard Hunt and Guido Tytgat. Kluwer Academic Publishers. 1998.
- [14] Schaffer FM, Monteiro RC, Volanakis JE, Cooper MD. IgA deficiency. *Immunodef Rev* 1991; 3:15-44.
- [15] Borody, T Andrews P, Mancuso N, Jankiewicz E, Brandi S: *Helicobacter pylori* reinfection 4 years post-eradication (letter) *Lancet* 1992; 339:1295.
- [16] Berstad Aundun, Mogens Kilian, Kolbjorn Naldes, and Per Brandtzaeg. Increased mucosal production of monomeric IgA1 but no IgA1 protease activity in *Helicobacter pylori* gastritis. *Am J Pathol* 1999; 155:41097-1104.
- [17] Thomas JE, Austin S, Dale A, McClean P, Harding M, Coward WA, Weaver LT: Protection by human milk IgA against *Helicobacter pylori* infection in infancy. *Lancet* 1993; 342:121.
- [18] Czinn SJ, Cai A, Nedrud JG: Protección of germ-free mice from infection by *Helicobacter felis* after active oral or passive IgA immunization. *Vaccine* 1993; 11:637-642.