



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS  
UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**Polimorfismo -308G/A de TNF-alfa y genotipos  
*babA2* y *cagA* de *Helicobacter pylori* en  
pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS  
P R E S E N T A:  
JULIO CÉSAR AZÚCAR HEZQUIO



DIRECTORA DE TESIS: DRA. GLORIA FERNÁNDEZ TILAPA

CHILPANCINGO GRO., MARZO DE 2010.

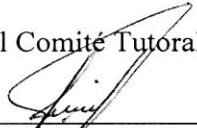



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

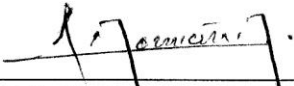
**APROBACIÓN DE TESIS**

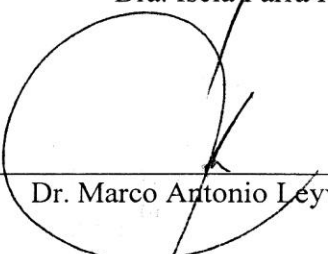
En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, siendo los 23 días del mes de septiembre de dos mil nueve, se reunieron los miembros del Comité Tutorial designado por la Academia de Posgrado de la Maestría en Ciencias Biomédicas, para examinar la tesis titulada **"Polimorfismo -308 G/A de TNF-alfa y genotipos babA2 y cagA de *Helicobacter pylori* en pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica"**, presentada por el alumno Julio César Azúcar Heziquio, para obtener el Grado de **Maestría en Ciencias Biomédicas**. Después del análisis correspondiente, los miembros del comité manifiestan su aprobación de la tesis, autorizan la impresión final de la misma y aceptan que, cuando se satisfagan los requisitos señalados en el Reglamento General de Estudios de Posgrado e Investigación Vigente, se proceda a la presentación del examen de grado.

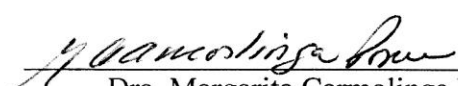
El Comité Tutorial

  
Dra. Gloria Fernández Tilapa  
Dirección de tesis

  
Dra. Isela Parra Rojas

  
M en C. Adolfo Román Román

  
Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez

  
Dra. Margarita Carmolinda Ponce

Vo. Bo 

Dra. Berenice Illades Aguiar  
Coordinadora de la Maestría en Ciencias  
Biomédicas

Vo. Bo 

Dr. Alfonso Bernabé Carreño  
Director de la Unidad Académica de Ciencias  
Químico Biológicas



Este trabajo se realizó en el laboratorio de Investigación Clínica de la Unidad académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, en Chilpancingo Guerrero.

**Bajo la dirección de:**

Dra. Gloria Fernández Tilapa

**La co-dirección de:**

Dra. Margarita Carmolinda Ponce

**La asesoría de:**

Dra. Isela Parra Rojas  
M en C. Adolfo Román Román  
Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez

En colaboración con el médico especialista en gastroenterología, Reyes Betancourt Linares, jefe de la Unidad Especializada en Gastroenterología Endoscopia de la ciudad de Chilpancingo, Guerrero.

Esta investigación se desarrollo por el financiamiento otorgado por la SEP a través de PIFI 2007 y del programa de apoyo a la reincorporación de ex-becarios PROMEP 2007 (Clave: UAGUER-EXB-096).

Durante el período en que cursó la Maestría en Ciencias Biomédicas, el QBP. Julio César Azúcar Heziquio, recibió beca del CONACYT.

## AGRADECIMIENTOS

A mi Amado Señor Jesús por el respaldo en todo este tiempo para poder concluir este trabajo, gracias Papá.

A la Dra. Gloria Fernández Tilapa, por el apoyo incondicional y el tiempo invertido en la revisión de esta tesis, siempre será un ejemplo a seguir.

A la Dra. Isela Parra Rojas, al Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez, al M en C. Adolfo Román Román, y a la Dra. Margarita Carmolina Ponce, quienes integraron el comité tutorial y ayudaron a mejorar este trabajo.

A la QBP. Deyla Sonia Ramírez Osogobio y al QBP. Pedro Salgado Sales, que desde el inicio de este trabajo me reiteraron su apoyo de diferentes formas hasta poder concluirlo.

A mis compañeros del laboratorio de Investigación Clínica: a la M en C. Dinorah Nashely Martínez por el gran apoyo en el análisis estadístico y más, a Cuauhtémoc Antúnez, Trinidad Mónico, Jose, Gabi, Karina y desde luego a mi querida amiga Jazmín Axinecuilteco, fue un gusto trabajar contigo amiguis, gracias por todo.

A Paola y Anahy por todas las facilidades y atenciones administrativas que siempre tuvieron.

Al QBP. Enedino Gómez Rodríguez y al QBP. Saith G. Álvarez Ramírez, por el apoyo en esos momentos que necesité de su ayuda, gracias químicos.

A mi amada Mamá, por todo el ejemplo que eres para mi vida y por cuidar siempre de mí en tus oraciones, te amo madrecita. A mi Papá, por que de una u otra forma siempre estuviste conmigo. A mi martita bonita.

A mis padres espirituales Juan Gutiérrez Pacheco y su esposa Rosa Adame, por sus consejos que han edificado mi alma, a mis hermanitos Tavo, Caro y July, por la compañía y el apoyo en las buenas y en las malas, Dios los guarde y los bendiga hasta mil generaciones.

A mi amigo y hermano Alfredo Marino, Dios te dará el deseo de tu corazón.

A mi amada suegrita, por que sin darse cuenta me impulsa a seguir adelante.

Por último, a la mujer que es el amor de mi vida, nunca me dejaste solo, te amo Annel.

## DEDICATORIA

Con todo mi corazón para ti, Paloma mía, Amiga mía, Amada mía, Preciosa mía, Esposa mía, Yurith Annel Portillo Clemente, te amo.

Para mi hermosa hijita, aunque no naces aún, se que compartes esta alegría con tu papi, te amo preciosa.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	7
RESULTADOS.....	12
DISCUSIÓN.....	17
REFERENCIAS.....	23



## RESUMEN

**Antecedentes:** La infección por *Helicobacter pylori cagA+/babA2+*, se asocia con diversas entidades clínicas, que van desde gastritis no atrófica hasta cáncer gástrico. El polimorfismo -308G/A del promotor de TNF- $\alpha$  (rs1800629) se asocia con predisposición a enfermedades gástricas relacionadas con infección por *H. pylori*.

**Objetivo.** Valorar la asociación del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  y de la infección por *H. pylori babA2+/cagA+* con gastritis crónica no atrófica y úlcera gástrica.

**Material y métodos.** En un estudio de casos y controles, se detectaron anticuerpos IgG e IgM anti-*H. pylori* por ELISA, en 150 personas asintomáticas. La detección de *cagA* y *babA2* se hizo por PCR en 103 pacientes con diagnóstico endoscópico e histopatológico de gastritis crónica y 18 con úlcera gástrica; todos con infección por *H. pylori*. En ambos grupos la genotipificación del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  se hizo por PCR-RFLPs. Se aplicó una encuesta donde se registraron datos generales de la población. **Resultados.** En el grupo de gastritis crónica, la frecuencia de *cagA* fue del 51.4% y de *babA2* fue del 32%. En los pacientes con úlcera gástrica se detectó la misma frecuencia de genotipos *cagA* y *babA2* con un 38.8% respectivamente. No se encontró asociación entre los genotipos *cagA+*, *babA2+* o *cagA+/babA2+* de la bacteria con el desarrollo de úlcera gástrica. La frecuencia del genotipo GG del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  fue del 54.7% en los controles, en el grupo de gastritis crónica del 79.6% y en el de úlcera gástrica del 77.8%. No se encontró asociación entre los genotipos *cagA+/babA2+* de *H. pylori* y del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  con úlcera gástrica. El 50% de los controles fueron positivos para IgG, IgM o ambos anticuerpos. **Conclusiones.** La presencia de otros SNPs en el hospedero y marcadores de virulencia de *H. pylori*, que no fueron estudiados en nuestra población, pueden tener una influencia importante en la aparición de patologías gástricas.

**Palabras clave.** *H. pylori*, *cagA*, *babA2*, gastritis crónica, úlcera gástrica.



## ABSTRACT

**Background:** The infection by *Helicobacter pylori cagA+/babA2+*, is associated with several clinical outcomes, from a non atrophic gastritis and even gastric cancer. The polymorphism -308G/A of TNF- $\alpha$  (rs1800629) have been related with predisposition to gastrics diseases associated with infection by *H. pylori*. **Aim.** To value the association of polymorphism -308G/A of TNF- $\alpha$  and of the infection by *H. pylori babA2+/cagA+* with non atrophic gastritis y gastric ulcer. **Materials and methods.** In study cases and control, we find antibodies IgG and IgM anti-*H. pylori* by ELISA, in 150 asymptomatic persons. The detection of *cagA* and *babA2* was determined by PCR in 103 patients with endoscopic and histopathology diagnosis of chronic gastritis and 18 with gastric ulcer, everyone infected by *H. pylori*. In both groups the genotyping of SNP -308G/A of TNF- $\alpha$  was determined by PCR-RFLP. All patients gave written informed consent to participate in the study. **Results.** The patients with chronic gastritis had frequency 51.4% of *cagA* and 32% of *babA2*. The group with gastric ulcer had the same frequency of *cagA* and *babA2* in 38.8%, respectively. There was not association between genotypes *cagA+*, *babA2+* or *cagA+/babA2+* from bacterium with gastric ulcer development. The genotype GG of the SNP -308G/A TNF- $\alpha$  was 54.7% in controls, the group of chronic gastritis had 79.6% and the patients with gastric ulcer had 77.8%. There was not association between genotypes *cagA+/babA2+* and SNP -308G/A of TNF- $\alpha$  with gastric ulcer development. In the group of controls, 50% had IgG, IgM or both antibodies. **Conclusion.** The presence of another SNPs in the host and virulence markers of *H. pylori*, that were not studied in our population, can to influence the development of gastric pathology.

**Keywords:** *H. pylori*, *cagA*, *babA2*, chronic gastritis, gastric ulcer.

## INTRODUCCIÓN

La infección por *Helicobacter pylori* se asocia con diversas entidades clínicas, que van desde gastritis no atrófica hasta cáncer gástrico. La prevalencia de infección por *H. pylori*, varía entre la población de un mismo país y de país en país. En 2006, el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE) de la Secretaría de Salud, reportó 1, 491, 309 casos nuevos de úlcera, gastritis, y duodenitis, que ocuparon el cuarto lugar como causas de enfermedad en la población mexicana. En Guerrero, en ese mismo año esas patologías fueron la sexta causa de enfermedad con 39, 055 casos. Por otra parte, en el periodo de 1996-2003 la tasa de mortalidad por tumores malignos fue de 44.5 por cada 100 mil habitantes y de éstos, la tasa de mortalidad por cáncer de estómago fue de 6.4 por cada 100 mil habitantes (CENAVECE SSA 2006).

*H. pylori* posee factores de virulencia que le facilitan la colonización de la mucosa gástrica. Algunas adhesinas de membrana externa facilitan su adherencia a las células epiteliales de la mucosa gástrica. La adhesina mejor conocida es la proteína BabA codificada por el gen *babA2*, que se encuentra en el 46% al 82.3% de las cepas que infectan población de América del Sur. BabA se une al antígeno del grupo sanguíneo Lewis b fucosilado presente en la superficie de las células epiteliales gástricas (Peek *et. al.* 2002; Rad *et. al.* 2004; Sheu *et. al.* 2003). La adhesión de *H. pylori* se da con frecuencia en antro o cuerpo del estómago a través de BabA. Esta adhesión favorece la liberación de toxinas y moléculas efectoras, como CagA, que modula vías de señalización que conducen a mal funcionamiento e inflamación de la mucosa gástrica, producción de auto-anticuerpos y pérdida de células parietales. La adhesión de la bacteria al epitelio gástrico también se relaciona con infiltración linfocitaria, atrofia glandular, metaplasia intestinal e incremento en la proliferación epitelial, entidades que se asocian con alto riesgo de desarrollar úlcera péptica y adenocarcinoma gástrico (Algood *et. al.* 2003; García *et. al.* 2003).

Del 50% a 70% de las cepas de *H. pylori* contienen una región de DNA de 40 kb conocida como isla de patogenicidad *cag* (*cag*-PAI). Esta isla codifica la citotoxina asociada al gen A, CagA y un sistema de secreción tipo IV (T4SS), que trasloca a CagA y moléculas de peptidoglicana (PGN), al interior de la célula epitelial gástrica (Nimri *et. al.* 2006; Blaser y Atherton 2004). En el citoplasma de la célula hospedera, CagA induce la activación de la proteína activadora 1 (AP-1), factor de transcripción que activa la expresión de IL-8 (Nomura *et. al.* 2002; Pinto-Santini y Salama 2005) y de otras quimiocinas. Por otra parte, el PGN interacciona con el receptor denominado dominio de oligomerización de unión a nucleótido-1 (NOD 1), y de esta forma señala para activar al factor de transcripción NF- $\kappa$ B, que modula la expresión de genes de citocinas como IL-8, quimiocina CXC2 (CXCL2) y beta-defensina-humana 2 (hBD-2). Estas promueven el infiltrado de neutrófilos y células mononucleares que producen IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6, citocinas que amplifican el proceso inflamatorio que resulta en una gastritis activa relacionada con la falta de secreción de ácido gástrico (Fox y Wang 2007).

El gen *vacA* codifica una proteína inmunogénica de 95 kDa llamada VacA. Esta tiene un efecto vacuolizante sobre las células del epitelio gástrico y participa de manera importante en la patogénesis de entidades clínicas como úlcera péptica y cáncer gástrico (Kuster *et. al.* 2006; Fox y Wang 2007; Martins *et. al.* 2005). Existe una gran diversidad genética entre los alelos del gen *vacA*. Este gen puede presentar un mosaico genético en base a variaciones alélicas en las regiones media (alelos m1 y m2) y señal (alelos s1 y s2). Los genotipos *vacA* s1/m1 de *H. pylori* tienen una mayor actividad vacuolizante, los genotipos s1/m2 presentan una actividad intermedia y en los genotipos s2/m2 la actividad es escasa o nula (Asrat *et. al.* 2004; Wang *et. al.* 2003; Backert *et. al.* 2004).

Entre los factores genéticos del huésped que influyen en la magnitud de la respuesta inflamatoria hacia *H. pylori*, se encuentran algunos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en genes de citocinas como IL- $\beta$ , IL-4, IL-6 y TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  es una citocina proinflamatoria regulada a nivel transcripcional, que participa de manera

importante en la defensa del huésped contra la infección por *H. pylori*; sin embargo, cuando los monocitos secretan altas concentraciones de TNF- $\alpha$ , esta citocina contribuye al daño del epitelio gástrico reduciendo la secreción de ácido gástrico (Yea *et. al.* 2001). Los polimorfismos descritos en la región promotora de este gen incluyen el -1031T/C, -863C/A, -857C/A, -574G/A, -376G/A, -308G/A, -238G/A y -163G/A (Soto *et. al.* 2004). La sustitución de una guanina (G) por una adenina (A) en la posición -308, origina que el factor de transcripción AP-1 se una con mayor afinidad a la región promotora de este gen, generando un aumento en la transcripción que da como resultado altas concentraciones de TNF- $\alpha$  (Yea *et. al.* 2001; Garza-González *et. al.* 2005). El SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  (rs1800629) se ha estudiado en pacientes con gastritis y se encontró que los individuos coreanos portadores del alelo -308A e infectados con cepas de *H. pylori cagA+* son más susceptibles de desarrollar patología gástrica. En esa población también se encontró que el SNP -308G/A, incrementa el riesgo de infección por *H. pylori* (Hamajima *et. al.* 2006). En una población del noreste de México, no se encontró asociación entre este polimorfismo y el riesgo de desarrollar cáncer gástrico, pero se encontró una alta frecuencia genotípica AA (87.3%) del SNP -308G/A, en personas con cáncer gástrico (Garza-González *et. al.* 2005).

Las moléculas antigénicas de la bacteria incluyen proteínas de choque térmico, Ureasa, CagA, VacA y LPS. Estos antígenos son captados y procesados por macrófagos, para luego activar células T de la lámina propia. Los linfocitos T contribuyen a la activación de los linfocitos B, para que se diferencien a células plasmáticas secretoras de anticuerpos IgG e IgA, en la superficie basal del epitelio gástrico. Los antígenos CagA, VacA y Ureasa de *H. pylori*, inducen la producción de anticuerpos IgG (Yokota *et al.*, 1998). Tosi *et al.*, reportaron que, *in vitro*, la unión de IgG a la bacteria, promueve la fagocitosis y lisis por neutrófilos (Tosi *et. al.* 1990). *H. pylori* posee un epítipo antigénico de alta inmunogenicidad en la cadena polisacárida del LPS. Este antígeno timo-independiente no genera cambio de isotipo, por lo que los linfocitos B son capaces de proliferar, diferenciarse y producir IgM en ausencia de

linfocitos T. Yokota *et al.*, encontró títulos de IgM contra este epítipo antigénico en adultos sanos. Por otro lado, los anticuerpos IgM se producen también en respuesta a antígenos timo-dependientes, como las proteínas de *H. pylori*, indicando así una infección activa (Yokota *et. al.* 1998).

En la literatura publicada del estado de Guerrero, no se encontraron datos acerca de la frecuencia de infección por *H. pylori babA2+/cagA+* y de los genotipos del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  en pacientes con diagnóstico de gastritis crónica y úlcera gástrica. Así mismo, se desconoce si existe asociación entre el polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  y la infección por *H. pylori babA2+/cagA+* en pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue valorar la asociación del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  y de la infección por *H. pylori babA2+/cagA+* con gastritis crónica y úlcera gástrica, así como detectar factores de riesgo que favorecen la adquisición de la infección.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Población.** Se realizó un estudio de casos y controles. El grupo de los casos se conformó de 121 pacientes positivos a la infección por *H. pylori*, de los cuales 103 tenían diagnóstico endoscópico e histopatológico de gastritis crónica y 18 de úlcera gástrica, atendidos en la Unidad Especializada en Gastroenterología Endoscopía de la ciudad de Chilpancingo, Gro. El grupo control se integró de 150 personas de uno u otro sexo, de la misma base poblacional que los casos, sin síntomas de enfermedades gástricas asociadas a la infección por *H. pylori* y sin historia de haberlas padecido, sin antecedentes de tratamiento con antibióticos para infecciones bacterianas, con inhibidores de la bomba de protones o neutralizadores del pH. Los casos y los controles aceptaron participar en el estudio de manera voluntaria firmando una carta de consentimiento. Mediante la aplicación de una encuesta, se registraron datos generales como sexo, edad, escolaridad, antecedentes familiares de enfermedades gástricas y de factores que propician la adquisición de la infección por *H. pylori*.

**Obtención de muestras sanguíneas.** De cada sujeto control se obtuvieron 6 ml de sangre periférica por punción venosa, 3 mL se colectaron en tubos con EDTA para la obtención de DNA y 3 mL en tubos sin EDTA para separar el suero. La temperatura de almacenamiento hasta su procesamiento fue de 4 °C para la sangre total y -20 °C para el suero.

**Obtención de Biopsias.** El médico gastroenterólogo a través de un endoscopio de fibra óptica, obtuvo una biopsia gástrica del sitio de la lesión, la cual se colocó en un tubo Eppendorf de 1.5 mL con solución de extracción (Tris 10 mM pH 8.0, EDTA 20 mM pH 8.0, SDS 0.5%) y se almacenó a -20 °C hasta la extracción de DNA.

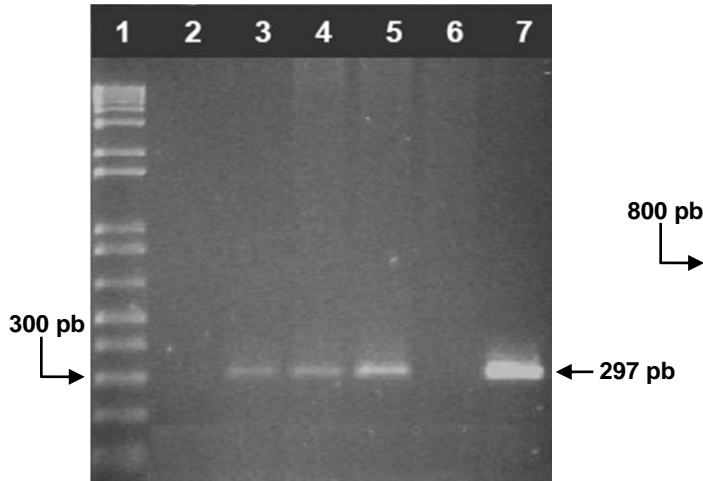
**Extracción de DNA a partir de biopsias.** Las biopsias se trataron con 3.8 µL de proteinasa K a una concentración de 20 mg/mL por 20 minutos a 65 °C (Sambrook 2001). La extracción de DNA genómico total de biopsias gástricas se hizo mediante la técnica de fenol-cloroformo alcohol isoamílico.

**Extracción de DNA a partir de leucocitos.** La extracción de DNA genómico a partir de leucocitos se realizó por la técnica de Miller (Miller DN *et. al.* 1999).

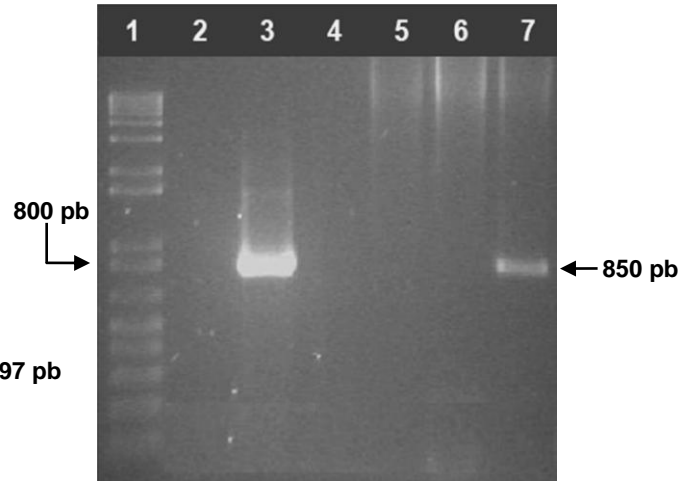
**Detección del gen *cagA* de *Helicobacter pylori*.** Las muestras positivas al gen 16S rRNA de *H. pylori* se sometieron a PCR para el gen *cagA* de la bacteria. Los oligonucleótidos que se utilizaron son: F 5'-ATAATGCTAAATTAGACAACCTTGAGCGA-3' y R 5'-TTAGAATAATCAACAAACATCACGCCAT-3', con los cuales se obtuvo un producto de amplificación de 297 pb, figura 1. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 15 µL con 10 pmol de cada oligonucleótido, 3.0 mM de MgCl<sub>2</sub>, 300 ng de DNA genómico, 0.2 mM de dNTP's y 1.0 U de TaqDNA polimerasa Platinum (Invitrogen, Brazil). El programa de amplificación consistió de un ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C por 5 min, 40 ciclos a 94 °C por 30 s, 55 °C por 30 s y 72 °C por 45 s y un ciclo de extensión final a 72 °C por 7 min (Yu *et. al.* 2002). Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en geles de agarosa al 1.5%, los cuales se tiñeron con bromuro de etidio y se observaron en un transiluminador de luz UV (BIO-RAD, Italia). Como control positivo se utilizó DNA de *H. pylori* cepa ATCC 43504 *cagA*+ (García *et. al.* 2003) .

**Detección del gen *babA2* de *Helicobacter pylori*.** Para la identificación del gen *babA2* de *H. pylori* los oligonucleótidos empleados fueron: F 5'-AATCCAAAAGGAGAAAAAGTATGAAA-3' y R 5'-TGTTAGTGATTCGGTGTAGGACA-3' con los cuales se obtuvo un producto de PCR de 850 pb, figura 2 (Gerhard *et. al.* 1999). La reacción de amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 15 µL con 10 pmol de cada oligonucleótido, 3.0 mM de MgCl<sub>2</sub>, 300 ng de DNA genómico, 0.2 mM de cada dNTP's, 1.0 U de TaqDNA polimerasa Platinum (Invitrogen, Brazil). El programa de amplificación consistió de un ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C por 3 min, 40 ciclos a 95 °C por 30 s, 57 °C por 40 s, 72 °C por 45 s y una extensión final a 72 °C por 5 min (Gerhard *et. al.* 1999). Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en geles de agarosa al 1.5%, fueron teñidos con bromuro de etidio y se observaron en un transiluminador de

luz UV (BIO-RAD, Italia). Como control positivo se utilizó DNA de *H. pylori* cepa ATCC 43504 *babA2*+ (García *et. al.* 2003).



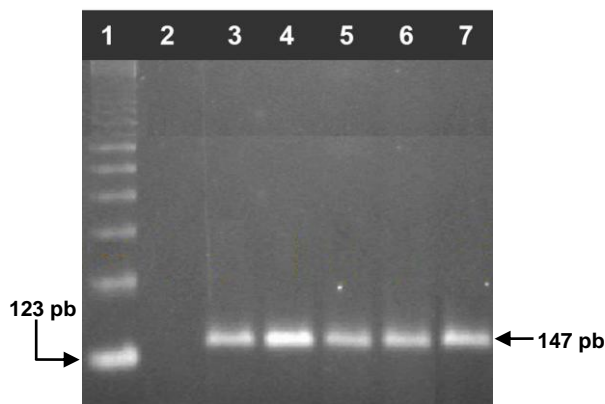
**Figura 1.** PCR para genotipos *cagA* de *H. pylori*. Carril 1: Marcador de peso molecular de 1Kb, carril 2: control negativo, carril 3: control positivo *H. pylori* ATCC 43504 (297 pb), carril 4, 5 y 7: muestras positivas, carril 6: muestra negativa.



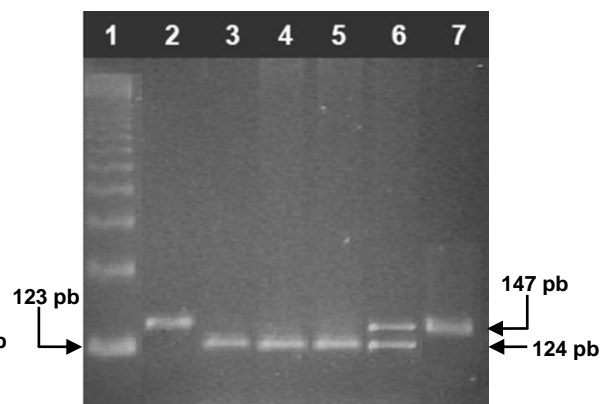
**Figura 2.** PCR para genotipos *babA2* de *H. pylori*. Carril 1: Marcador de peso molecular de 1Kb, carril 2: control negativo, carril 3: control positivo *H. pylori* ATCC 43504 (850 pb), carril 4-6: muestras negativas, carril 7: muestra positiva.



**Genotipificación del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$ .** Para amplificar una secuencia de la región promotora del gen de TNF- $\alpha$ , se utilizaron los siguientes oligonucleótidos: F 5'-GAGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3' y R 5'-GGGACACACAAGCATCAAG-3' con los cuales se obtuvo un producto de PCR de 147 pb, figura 3. La reacción de amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 25  $\mu$ L que incluyó: 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 50 ng de DNA genómico, 0.2 mM de dNTP's, 5 pmol de cada oligonucleótido y 1.0 U de TaqDNA polimerasa recombinante (Invitrogen, Brazil) (Yea *et. al.* 2001). El programa de amplificación consistió de un ciclo inicial de desnaturalización a 94 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 55 °C por 45 s, 72 °C por 1 min con una extensión final a 72 °C por 2 min. Para definir los genotipos del polimorfismo -308G/A, se sometieron a restricción 5  $\mu$ L del producto de PCR con 4.0 U de la enzima *Nco*I (New England BioLabs, USA) en un volumen total de 10  $\mu$ L. La reacción se incubó a 37 °C por tres horas (Yea *et. al.* 2001). Los productos de restricción fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 4% teñidos con bromuro de etidio y observados en un transiluminador de luz UV (BIO-RAD, Italia). El genotipo homocigoto GG generó dos fragmentos de 124 y 23 pb, el genotipo heterocigoto GA tres fragmentos de 147, 124 y 23 pb, mientras que el genotipo homocigoto AA generó un fragmento sin digerir de 147 pb, figura 4.



**Figura 3.** PCR de TNF- $\alpha$ . Carril 1: Marcador de peso molecular de 123 pb, carril 2: agua desionizada estéril, carril 3-7: productos de PCR de 147 pb.



**Figura 4.** RFLPs del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$ . Carril 1: Marcador de peso molecular de 123 pb, carril 2: producto de PCR sin digerir de 147 pb, carril 3-5: genotipos GG, carril 6: genotipo GA, carril 7: genotipo AA.

**Detección de anticuerpos IgG e IgM anti-*Helicobacter pylori*.** La detección de anticuerpos anti-*H.pylori* se realizó mediante el Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzima (ELISA) utilizando un kit en microplaca *H. pylori* IgG o IgM EIA (International Immuno-Diagnostics, USA). El procedimiento y la interpretación de los resultados se realizaron de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Se consideró que un sujeto fue seropositivo cuando resultó positivo al menos a uno de los dos anticuerpos.

**Análisis estadístico.** El análisis estadístico de los resultados se realizó con el paquete estadístico Stata v. 9.2. Se obtuvieron frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  en ambos grupos de estudio, así como la frecuencia de los genes *babA2* y *cagA* de *H. pylori* en el grupo de los casos. Las diferencias entre las frecuencias se analizaron con la prueba exacta de Fisher y Ji cuadrada. Se determinaron mediana y rangos intercuartilo de las variables cuantitativas asimétricas para ambos grupos, se usó la prueba de Kruskal-Wallis para hacer la comparación de medianas entre los casos y controles. Se determinó la razón de momios (OR) y los intervalos de confianza al 95% para establecer la asociación entre el polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  con la gastritis crónica, úlcera gástrica y la infección por *H. pylori* *cagA+* y *babA2+* mediante modelos de regresión logística multinomial.

## RESULTADOS

**Características de la población.** Se estudiaron 150 sujetos control y 121 casos, 103 tuvieron un diagnóstico endoscópico e histopatológico de gastritis crónica no atrófica y 18 con úlcera gástrica. El promedio de edad en los controles fue de 33 años, con un intervalo de 15 a 78 años, en los pacientes con gastritis crónica fue de 46 años, con un intervalo de 11 a 79 años y en sujetos con úlcera gástrica fue de 60 años, con un intervalo de 26 a 83 años. Siete pacientes menores de 20 años tenían gastritis crónica. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio en relación a la edad, escolaridad y al servicio de drenaje, tabla 1.

**Tabla 1. Características generales de la población.**

	Controles n=150	Gastritis crónica n=103	Úlcera gástrica n=18	Valor de p
Edad (mediana y rango intercuartil)	28 (23-42)	47 (36-57)	65 (44-76)	0.0001 <sup>‡</sup>
Sexo n(%)				
Femenino	101 (67.3)	63 (61.2)	12 (66.7)	0.593 <sup>*</sup>
Masculino	49 (32.7)	40 (38.8)	6 (33.3)	
Escolaridad <sup>⊙</sup> n(%)				
Sin estudios	5 (3.3)	9 (8.7)	6 (33.3)	<0.001 <sup>‡</sup>
Primaria	21 (14)	21 (20.4)	5 (27.8)	
Secundaria	24 (16)	12 (11.7)	2 (11.1)	
Bachillerato	48 (32)	14 (13.6)	2 (11.1)	
Licenciatura y más	52 (34.7)	47 (45.6)	3 (16.7)	
Antecedentes familiares de patologías gástricas asociadas a <i>H. pylori</i> n(%)				
No	79 (52.7)	54 (52.4)	14 (77.8)	0.121 <sup>‡</sup>
Si	71 (47.3)	49 (47.6)	4 (22.2)	
Estrés n(%)				
No	74 (49.3)	37 (36)	7 (38.9)	0.098 <sup>*</sup>
Si	76 (50.7)	66 (64)	11 (61.1)	
Hábito de fumar n(%)				
No	72 (48)	58 (56.3)	7 (38.9)	0.255 <sup>*</sup>
Fumador actual o ex fumador	78 (52)	45 (43.7)	11 (61.1)	
Lugar de procedencia n(%)				
Zona centro	89 (59.3)	50 (48.5)	8 (44.4)	0.164 <sup>*</sup>
Otros	61 (40.7)	53 (51.5)	10 (55.6)	
Servicio de agua potable n(%)				
Si	145 (96.7)	98 (95.2)	17 (94.4)	0.608 <sup>‡</sup>
No	5 (3.3)	5 (4.8)	1 (5.6)	
Servicio de drenaje n(%)				
Si	148 (98.7)	100 (97.1)	16 (88.9)	0.049 <sup>‡</sup>
No	2 (1.3)	3 (2.9)	2 (11.1)	

<sup>⊙</sup> Edad: se reporta mediana y rango intercuartil. <sup>‡</sup> Prueba de Kruskal-Wallis. Se reportan frecuencias simples para variables cualitativas. <sup>\*</sup> Prueba de Ji cuadrada; <sup>‡</sup> Prueba exacta de Fisher. <sup>⊙</sup> Niveles de escolaridad concluidos.

### ***H. pylori* cagA+ y babA2+ en pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica.**

Todos los casos (n=121), fueron positivos al gen 16S rRNA de *H. pylori*. La frecuencia del gen *cagA* en la población total de los casos fue del 49.5% y del gen *babA2* fue del 33%. El 23.3% de los pacientes con diagnóstico de gastritis crónica tenían infección con *H. pylori* *cagA*+/*babA2*+, mientras que en el grupo de úlcera gástrica, solo el 16.6% tuvieron la presencia de cepas con los dos marcadores de virulencia. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de gastritis crónica y úlcera gástrica en relación a la presencia de *cagA*, *babA2* o los dos genotipos de *H. pylori*, tabla 2.

**Tabla 2. Frecuencia de genotipos *cagA* y *babA2* en casos de gastritis crónica y úlcera gástrica.**

Genotipos de <i>H. pylori</i> . n=121	Gastritis crónica n= 103	Úlcera gástrica n=18	Valor de p
<i>cagA</i> -	50 (48.6)	11 (61.2)	0.325 <sup>☆</sup>
<i>cagA</i> +	53 (51.4)	7 (38.8)	
<i>babA2</i> -	70 (68)	11 (61.2)	0.569 <sup>☆</sup>
<i>babA2</i> +	33 (32)	7 (38.8)	
<i>cagA</i> +/ <i>babA2</i> +	24 (23.3)	3 (16.6)	0.815 <sup>‡</sup>

<sup>☆</sup> Prueba de Ji cuadrada. <sup>‡</sup> Prueba exacta de Fisher

No se encontró asociación estadísticamente significativa entre los genotipos *cagA*+ y *babA2*+ de *H. pylori* con úlcera gástrica, tabla 3.

**Tabla 3. Asociación de los genotipos *cagA* y *babA2* de *H. pylori* con úlcera gástrica.**

Genotipos de <i>H. pylori</i>	Casos			
	Gastritis crónica <sup>c</sup> n=103	Úlcera gástrica n=18	RM <sup>A</sup> (IC95%)	RM <sup>P</sup> (IC95%)
<i>cagA</i> -	50	11		
<i>cagA</i> +	53	7	0.60 (0.18-1.86)	0.53 (0.16-1.69)
<i>babA2</i> -	70	11		
<i>babA2</i> +	33	7	1.34 (0.40-4.21)	1.48 (0.46-4.76)

<sup>c</sup> El grupo de Gastritis crónica se usa como categoría de referencia. RM<sup>A</sup>=crudos; RM<sup>P</sup>=ajustado por edad y escolaridad, mediante modelos de regresión logística multinomial.

## Asociación del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$ con gastritis crónica y úlcera gástrica.

En los sujetos control las frecuencias genotípicas se encontraron en equilibrio génico de acuerdo con la ley de Hardy-Weinberg ( $X^2=0.169$ ). En el grupo de úlcera gástrica no se encontró ningún paciente con el genotipo AA. El genotipo GG y el alelo G fueron los más frecuentes en los tres grupos de estudio. Al calcular el valor de p, se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre los grupos de estudio en relación a los genotipos del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$ , tabla 4.

**Tabla 4. Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  en controles y casos de gastritis crónica y úlcera gástrica.**

Genotipo	Controles n=150	Gastritis crónica n=103	Úlcera gástrica n=18	Valor de p
AA	6 (4)	5 (4.9)	0 (0)	<0.001 <sup>‡</sup>
GA	62 (41.3)	16 (15.5)	4 (22.2)	
GG	82 (54.7)	82 (79.6)	14 (77.8)	
Alelos				
A	74 (0.247)	26 (0.127)	4 (0.111)	
G	226 (0.753)	180 (0.873)	32 (0.889)	

<sup>‡</sup> Prueba exacta de Fisher.

No se encontró asociación estadísticamente significativa entre los genotipos GA y GG del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  con el desarrollo de gastritis crónica y úlcera gástrica, tabla 5.

**Tabla 5. Asociación del polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  con gastritis crónica y úlcera gástrica.**

Genotipo	Controles n=150	Casos			
		GC <sup>§</sup> n=103	RM <sup>^</sup> (IC95%)	UG <sup>Y</sup> n=18	RM <sup>^</sup> (IC95%)
AA	6	5	1.0	0 *	1.0
GA	62	16	0.30 (0.06-1.47)	4	0.55 (0.05-29.98)
GG	82	82	1.20 (0.29-5.17)	14	1.26 (0.14-60.75)

<sup>§</sup> Gastritis crónica. <sup>Y</sup> Úlcera gástrica. RM<sup>^</sup>=crudos. \* Se agregó una unidad para calcular la razón de momios.

Se evaluó la interacción de los dos genotipos *cagA/babA2* de la bacteria y del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$ , con el desarrollo de úlcera gástrica. Los casos de gastritis crónica se usaron como grupo de comparación. No se encontró asociación entre los genotipos *cagA+/babA2+* y del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  con úlcera gástrica, tabla 6.

**Tabla 6. Interacción de los genotipos *cagA*, *babA2* de *H. pylori* y del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  en pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica.**

	GC <sup>§</sup> n=103	UG <sup>¥</sup> n=18	RM <sup>^</sup> (IC95%)
<i>cagA-/babA2-/AA</i>	1	0 *	1.0 <sup>Ω</sup>
<i>cagA+/babA2+/GA</i>	3	2	1.5 (0.049 - 117.5)
<i>cagA+/babA2+/GG</i>	21	1	0.18 (0.006 - 16.0)

<sup>Ω</sup> Categoría de referencia. <sup>§</sup> Gastritis crónica. <sup>¥</sup> Úlcera gástrica. RM<sup>^</sup>=crudos. \* Se agregó una unidad para calcular la razón de momios.

### IgG e IgM anti-*H. pylori* en el grupo control.

El 10% fueron IgG e IgM positivos y el 50% fueron positivos para IgG, IgM o para ambos anticuerpos, figura 3.

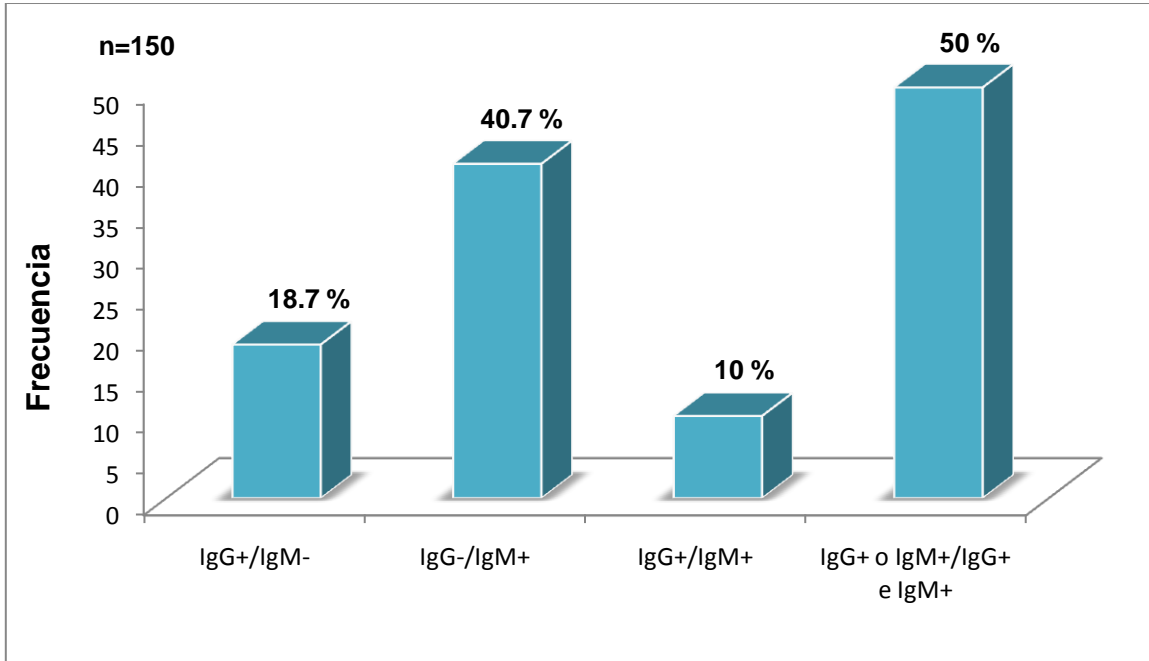


Figura 3. Seroprevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*H. pylori* en el grupo control.

## DISCUSIÓN

Diversos factores de riesgo favorecen la adquisición de *H. pylori*, así mismo diferentes condiciones ambientales, factores genéticos del hospedero y factores de virulencia de la bacteria, favorecen la aparición de enfermedades gástricas. En este trabajo encontramos diferencias significativas en relación a la edad, la escolaridad y el servicio de drenaje con que contaban los sujetos incluidos en los tres grupos de estudio. Siete pacientes con gastritis crónica fueron menores de 20 años y 10 pacientes con úlcera gástrica eran mayores de 60 años. Estos hallazgos pueden deberse a que Guerrero carece de buenas condiciones higiénico-sanitarias y ser el segundo estado con mayor índice de analfabetismo, lo que aumenta la falta de conocimiento acerca de los mecanismos y condiciones que predisponen a la aparición de enfermedades gástricas (INEGI 2005). Rota *et. al.* en pacientes de Brazil con gastritis crónica y úlcera gástrica, al igual que Lanas *et. al.* en una población española con úlcera duodenal y úlcera gástrica, no encontraron diferencias significativas en relación a la edad en estos grupos de pacientes, asegurando que hay otros factores de riesgo como el uso de anti-inflamatorios no esteroideos que se relacionan con la aparición de enfermedades gástricas (Rota *et. al.* 2001; Lanas *et. al.* 2001).

En países en desarrollo como México, se ha reportado una prevalencia de *H. pylori cagA+* de 47.6% a 63.4% (Torres *et. al.* 2005) y en países desarrollados de 60% (Segal *et. al.* 1999). En este estudio, la prevalencia de cepas *cagA+* fue del 49.5%, dato que concuerda con lo observado por otros investigadores (Martins *et. al.* 2005; Garcia *et. al.* 2006; Nomura *et. al.* 2002). Se encontró que el 51.4% de los pacientes con gastritis crónica fueron *H. pylori cagA+*, porcentaje similar a lo reportado por Paniagua *et al.* (52%) en una población mexicana con diagnóstico de gastritis crónica (Paniagua *et. al.* 2009). Es posible que en población mexicana la distribución de cepas *cagA+* sea homogénea entre personas que padecen gastritis crónica.



En el grupo de úlcera gástrica la prevalencia de *H. pylori cagA+* fue de 38.8%, esta frecuencia es menor a la reportada en un estudio realizado en la Cd. de México por González-Valencia *et. al.*, quienes encontraron una frecuencia del gen *cagA* del 81% en individuos con úlcera péptica activa y del 90% en pacientes con úlcera péptica no activa. Esta diferencia puede deberse a que nosotros detectamos *cagA* a partir de DNA total de biopsia de un solo sitio del estómago y ellos de DNA obtenido del cultivo de la bacteria. Morales-Espinosa *et. al.*, en un grupo de pacientes de la ciudad de México, con diagnóstico de úlcera duodenal, úlcera gástrica y dispepsia no ulcerosa, cultivaron una biopsia de antro y otra del cuerpo del estómago, y tuvieron una frecuencia de aislamiento de *H. pylori* del 100%, así mismo, el genotipo *cagA+* se identificó en antro y cuerpo del estómago en todos los pacientes. Esto sugiere que el cultivo de las biopsias y el empleo de diferentes oligonucleótidos para la detección de *cagA*, juegan un papel importante en la estimación de la prevalencia de este gen.

La adherencia de *H. pylori* al epitelio gástrico, mediada por BabA2, es un paso importante en la patogénesis gástrica. En países de América del Sur, las frecuencias de cepas *H. pylori babA2+* van de un 46% a un 82.3%. García *et. al.* en el 2006, encontraron solo el 1.5% de cepas *babA2+* en una población chilena con sospecha de patología gástrica. En nuestro estudio, la prevalencia de cepas *babA2+* en el grupo de gastritis crónica fue del 32% y Paniagua *et. al.* (2009), reportaron una frecuencia del 21.7% en una población mexicana con el mismo diagnóstico. En el grupo de úlcera gástrica, encontramos una frecuencia del 38.8%, mientras que Torres *et. al.* (2009), reportaron una frecuencia del 84.8% en pacientes cubanos con úlcera gástrica, usando los iniciadores de Sheu *et. al.* Observaron también que al usar los iniciadores de Gerhard *et. al.* (1999) en ese grupo de pacientes, la prevalencia era más baja.

En países asiáticos la prevalencia de *babA2+* es mayor al 70%, aún usando los iniciadores de Gerhard, como es el caso de Mizushima *et. al.* quienes reportan un 84.4% de genotipos *babA2+* en una población japonesa con diagnóstico de úlcera gástrica. Globalmente, los resultados sugieren que es necesario el uso de

oligonucleótidos que reconozcan una secuencia altamente conservada del gen *babA2* para aumentar la sensibilidad y especificidad en su detección.

Para tener un mejor conocimiento acerca de las zonas del estómago que están colonizadas por *H. pylori* es necesario estudiar cada uno de los sitios que componen el estómago. López-Vidal *et. al.*, en una población de la ciudad de México, cultivaron tres biopsias de cada una de las cuatro zonas del estómago (antro, porción angular, cuerpo y fundus), un total de 12 biopsias por paciente, con diagnóstico de cáncer gástrico, dispepsia no ulcerosa y reflujo gastroesofágico. Ellos reportan que en pacientes con dispepsia no ulcerosa, *H. pylori* se encuentra distribuido de manera uniforme en todo el estómago, así mismo encuentran que en pacientes con cáncer gástrico, *H. pylori* tiene preferencia por el fundus y el cuerpo, por último reportan que en pacientes dispépticos, las cepas de *H. pylori cagA+*, tienen preferencia por el fundus y cuerpo el estómago. En estudios posteriores, es conveniente incluir muestras del fundus y del cuerpo para evaluar la presencia de este gen. En este trabajo, el 77.4% de las biopsias estudiadas en el grupo de gastritis crónica fueron de antro, y el 22.6% fueron de cuerpo, píloro y porción angular.

La presencia de dos o más marcadores de virulencia de *H. pylori* como *cagA* y *babA2*, se han relacionado con la severidad de entidades clínicas gástricas. Nosotros encontramos una frecuencia de cepas *H. pylori cagA+/babA2+* del 23.3% en pacientes con gastritis crónica. Estas frecuencias superan lo reportado por Paniagua *et. al.* en pacientes mexicanos con el mismo diagnóstico, donde reportan un 14.4% de cepas *H. pylori cagA+/babA2+*.

El polimorfismo en la posición -308G/A del promotor de TNF- $\alpha$ , se ha relacionado con un aumento en la tasa de transcripción del gen, lo que genera altas concentraciones de esta citocina (Wilson *et. al.* 1997). Diversos estudios han asociado este polimorfismo con patologías gastroduodenales. Machado *et. al.* reportaron una asociación (OR 2.2, CI 95% 1.4-3.5) entre el alelo A del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  con adenocarcinoma gástrico (Machado *et. al.* 2003). En otro estudio se reportó que los pacientes con gastritis, que son portadores del alelo A de este SNP e infectados con

cepas de *H. pylori cagA+*, son más susceptibles de desarrollar patología gástrica. En esa población también se encontró que este SNP incrementa el riesgo de infección por *H. pylori* (Hamajima *et. al.* 2006). Partida-Rodríguez *et. al.* en 2009, en población con úlcera duodenal y cáncer gástrico de la ciudad de México reportaron, una asociación del alelo A con úlcera duodenal (OR 3.31, CI 95% 1.48-7.39). Estas observaciones sostienen que TNF- $\alpha$ , es una citocina que participa de manera importante en el proceso inflamatorio responsable de favorecer el desarrollo de gastritis crónica, úlcera gástrica y cáncer gástrico.

Sin embargo, recientemente se reportó que el SNP -308G/A de TNF- $\alpha$ , no influye sobre la concentración de la proteína en circulación, durante un proceso de inflamación inducido *in vivo* (Taudorf *et. al.* 2008). Jong *et. al.* demostraron también que este SNP, no determina los niveles de producción de TNF- $\alpha$  en sangre periférica, en presencia de una endotoxina bacteriana (Jong *et. al.* 2002) y otro estudio reportó que este SNP no se asocia con altas concentraciones de TNF- $\alpha$  en suero (Skoog *et. al.* 1999). Esto sugiere que la expresión de la proteína no solo depende de un cambio genético en el promotor del gen, si no que existen otros factores que favorecen niveles elevados de TNF- $\alpha$ .

Tabibzadeh *et. al.* reportaron que la expresión del RNAm de TNF- $\alpha$  y la síntesis de proteína, dependen del ciclo menstrual, afirmando que durante las fases secretora y menstrual, hay un incremento notable de RNAm de TNF- $\alpha$  y de proteína TNF- $\alpha$  en circulación (Tabibzadeh *et. al.* 1999), de esta forma el sexo es un factor que puede relacionarse con la aparición de patologías gástricas.

Kunstmann *et. al.* reportan que el genotipo GG es un factor de riesgo para úlcera duodenal (OR 10.7), con una frecuencia del genotipo AA de 0% en pacientes con ese diagnóstico (Kunstmann *et. al.* 1999). En este estudio encontramos también una muy baja frecuencia del genotipo AA del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  (Controles 4%; GC 4.9%; UG 0%) y no encontramos asociación de los genotipos GA y GG de este SNP con gastritis crónica y úlcera gástrica.

Al evaluar la interacción de los genes bacterianos con los genotipos del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$ , *cagA+/babA2+/GA* y *cagA+/babA2+/GG*, no encontramos

asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de úlcera gástrica. Estos datos difieren con un estudio donde reportan una asociación significativa (OR 16.6 CI 95% 7.7-35.9) entre la interacción de los genotipos *cagA*+/GG con cáncer gástrico.

El tamaño de la muestra usado en este trabajo, puede explicar la falta de asociación, por esta razón sugerimos incrementar el número de muestras, para aumentar la probabilidad de encontrar esta asociación. Así mismo sugerimos que existen otros factores de riesgo que pueden estar favoreciendo la aparición de enfermedades gástricas, como son: factores de virulencia de *H. pylori* y diferentes polimorfismos de citocinas proinflamatorias que no se estudiaron en este trabajo, como lo reportado por Martínez *et. al.*, quienes encuentran asociación (OR 4.4 CI 95% 1.02-19.2) al evaluar la interacción del genotipo *vacAs1/m1* de *H. pylori* y el alelo C del SNP - 31T/C de la IL-1B con úlcera gástrica, en el mismo grupo de pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica que se estudiaron en este trabajo (Martínez *et. al.* 2009).

El genotipo más frecuente en los tres grupos de estudio fue el GG, seguido del GA y AA. Estos resultados son consistentes con otros trabajos realizados en este país (Parra-Rojas *et. al.* 2006; Partida-Rodríguez *et. al.* 2009; Zuñiga *et. al.* 2001). Sin embargo, en un estudio realizado en Monterrey Nuevo León, se encontró que el genotipo AA fue el más frecuente, seguido del GA y GG, en personas sanas y en pacientes con cáncer gástrico (Garza-González *et. al.* 2005). Las diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre la población mexicana, se pueden explicar por el hecho de que el genoma de los mexicanos, es el resultado de la mezcla de 35 grupos étnicos y que varía entre las distintas regiones del país, lo que lo hace diferente al genoma de poblaciones de Europa, Asia y África (Jiménez-Sánchez *et. al.* 2009).

En el grupo de controles, se encontró una prevalencia de anticuerpos anti-*H. pylori* IgG del 18.7% y del 40.7% para IgM, porcentajes superiores a los reportados por Díaz *et. al.* quienes reportaron una frecuencia de 12.9% y 23.7% para IgG e IgM respectivamente, en una población sin sintomatología gástrica de Chilpancingo, Gro (Díaz *et. al.* 2007). En 1999 Leal *et. al.*, reportaron una frecuencia de IgG del 66%, porcentaje mayor que el encontrado por nosotros. Las diferencias en estas frecuencias se pueden explicar por el hecho de que nosotros usamos un kit comercial de una compañía extranjera (USA), el cual usa como fuente de antígenos cepas que no circulan en México, por el contrario, Leal *et al.*, usaron un kit no comercial que utiliza antígenos obtenidos de cepas aisladas en México (Leal *et. al.* 1999).

En conclusión, la presencia del SNP -308G/A de TNF- $\alpha$  en nuestro grupo de estudio no representa un factor de riesgo asociado al desarrollo de gastritis crónica y úlcera gástrica, sin embargo, no se descarta que otros polimorfismos en el gen de TNF- $\alpha$  y en genes de otras citocinas, participen como factores de riesgo genéticos para predisponer lesiones gástricas. Los genotipos *cagA+* y *babA2+* de *H. pylori*, no son los únicos factores de virulencia que pueden favorecer el desarrollo de lesiones gástricas, esto se refleja por un porcentaje importante de pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica que fueron negativos a estos genotipos. En la población del estado de Guerrero, existe una alta prevalencia de infección (50%) por *H. pylori*, esto puede representar un riesgo para desarrollar en un futuro, lesiones gástricas, sobre todo si la erradicación de la bacteria no se hace de manera eficiente.

## REFERENCIAS

1. SSA, Subsecretaría de prevención y promoción de la salud. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE). Información epidemiológica de morbilidad 2006.
2. Peek RM, Crabtree JE. *Helicobacter* infection and gastric neoplasia. *J Pathol.* 2006;208(2):233-48.
3. Kusters JG, Van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(3):449-90.
4. Beswick EJ, Suarez G, Reyes VE. *H pylori* and host interactions that influence pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2006;12(35):5599-605.
5. Fox JG, Wang TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. *J Clin Invest.* 2007;117(1):60-9.
6. Peek RM, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(1):28-37.
7. Rad R, Dossumbekova A, Neu B, Lang R, Bauer S, Saur D, et al. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection. *Gut.* 2004;53(8):1082-9.
8. Sheu BS, Sheu SM, Yang HB, Huang AH, Wu JJ. Host gastric Lewis expression determines the bacterial density of *Helicobacter pylori* in *babA2* genopositive infection. *Gut.* 2003;52(7):927-32.
9. Pinto-Santini D, Salama NR. The biology of *Helicobacter pylori* infection, a major risk factor for gastric adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(8):1853-8.
10. Algood HM, Cover TL. *Helicobacter pylori* persistence: an overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(4):597-613.
11. Martins LC, Corvelo TC, Demachki S, Araujo MT, Assumpcao MB, Vilar SC, et al. Clinical and pathological importance of *vacA* allele heterogeneity and *cagA* status in peptic ulcer disease in patients from North Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100(8):875-81.
12. García CA, Barra TR, Delgado SC, Kawaguchi PF, Trabal FN, Montenegro HS, et al. Genotipificación de aislados clínicos de *Helicobacter pylori* en base a genes asociados a virulencia *cagA*, *vacA* y *babA2*. Primer aislamiento de una cepa *babA2* positiva en pacientes chilenos. *Rev Med Chile* 2006; 134: 981-988.
13. Blaser MJ, Atherton JC. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest.* 2004;113(3):321-33.
14. Das JC, Paul N. Epidemiology and pathophysiology of *Helicobacter pylori* infection in children. *Indian J Pediatr.* 2007;74(3):287-90.
15. Aravena ET. *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico. *Gastr Latinoam* 2007; Vol 18. No 2: 129-132.
16. Prinz C, Schwendy S, Volland P. *H pylori* and gastric cancer: shifting the global burden. *World J Gastroenterol.* 2006;12(34):5458-64.

17. Kamangar F, Abnet CC, Hutchinson AA, Newschaffer CJ, Helzlsouer K, Shugart YY, et al. Polymorphisms in inflammation-related genes and risk of gastric cancer (Finland). *Cancer Causes Control*. 2006;17(1):117-25.
18. Yea SS, Yang YI, Jang WH, Lee YJ, Bae HS, Paik KH. Association between TNF-alpha promoter polymorphism and *Helicobacter pylori cagA* subtype infection. *J Clin Pathol*. 2001;54(9):703-6.
19. Hamajima N, Naito M, Kondo T, Goto Y. Genetic factors involved in the development of *Helicobacter pylori*-related gastric cancer. *Cancer Sci*. 2006;97(11):1129-38.
20. Garza-Gonzalez E, Bosques-Padilla FJ, El-Omar E, Hold G, Tijerina-Menchaca R, Maldonado-Garza HJ, et al. Role of the polymorphic IL-1B, IL-1RN and TNF-A genes in distal gastric cancer in Mexico. *Int J Cancer*. 2005;20;114(2):237-41.
21. Soto LS, Llanos C, Sabugo F, Salazar L, Aguillón C, Cuchacovich M. Utilidad de Determinar el Polimorfismo de la Región Promotora -308 del Gen del Factor de Necrosis Tumoral Alfa, en Pacientes con Artritis Reumatoidea. *Reumatología* 2004; 20(3):125-128.
22. Moorchung N, Srivastava AN, Gupta NK, Ghoshal UC, Achyut BR, Mittal B. Cytokine gene polymorphisms and the pathology of chronic gastritis. *Singapore Med J*. 2007;48(5):447-54.
23. Kamali-Sarvestani E, Bazargani A, Masoudian M, Lankarani K, Taghavi AR, Saberifiroozi M. Association of *H pylori cagA* and *vacA* genotypes and IL-8 gene polymorphisms with clinical outcome of infection in Iranian patients with gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol*. 2006;28;12(32):5205-10.
24. Nimri LF, Matalka I, Bani HK, Ibrahim M. *Helicobacter pylori* genotypes identified in gastric biopsy specimens from Jordanian patients. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:27.
25. Gonzalez CA, Sala N, Capella G. Genetic susceptibility and gastric cancer risk. *Int J Cancer*. 2002;20;100(3):249-60.
26. Leung WK, Chan MC, To KF, Man EP, Chu ES, et al. *H. pylori* genotypes and cytokine gene polymorphisms influence the development of gastric intestinal metaplasia in a Chinese population. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(4):714-20.
27. Asrat D, Nilsson I, Mengistu Y, Kassa E, Ashenafi S, Ayenew K, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genotypes in Ethiopian dyspeptic patients. *J Clin Microbiol*. 2004;42(6):2682-4.
28. Ye W, Held M, Lagergren J, Engstrand L, Blot WJ, McLaughlin JK, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric atrophy: risk of adenocarcinoma and squamous-cell carcinoma of the esophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia. *J Natl Cancer Inst*. 2004;3;96(5):388-96.
29. 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(4):480-4.

30. Wang J, Van Doorn LJ, Robinson PA, Ji X, Wang D, Wang Y, et al. Regional variation among *vacA* alleles of *Helicobacter pylori* in China. *J Clin Microbiol.* 2003;41(5):1942-5.
31. Backert S, Schwarz T, Miehle S, Kirsch C, Sommer C, Kwok T, et al. Functional analysis of the *cag* pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from patients with gastritis, peptic ulcer, and gastric cancer. *Infect Immun.* 2004;72(2):1043-56.
32. Rota CA, Pereira-Lima JC, Blaya C, Nardi NB. Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3' region of *cagA* gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. *J Clin Microbiol.* 2001;39(2):606-12.
33. Salama NR, Gonzalez-Valencia G, Deatherage B, Aviles-Jimenez F, Atherton JC, Graham DY, et al. Genetic analysis of *Helicobacter pylori* strain populations colonizing the stomach at different times postinfection. *J Bacteriol.* 2007;189(10):3834-45.
34. Rad R, Gerhard M, Lang R, Schoniger M, Rosch T, Schepp W, et al. The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *J Immunol.* 2002;15;168(6):3033-41.
35. Blaser MJ. Polymorphic bacteria persisting in polymorphic hosts: assessing *Helicobacter pylori*-related risks for gastric cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002;20;94(22):1662-3.
36. Nomura AM, Perez-Perez GI, Lee J, Stemmermann G, Blaser MJ. Relation between *Helicobacter pylori* *cagA* status and risk of peptic ulcer disease. *Am J Epidemiol.* 2002;155(11):1054-9.
37. El-Omar EM. The importance of interleukin 1 beta in *Helicobacter pylori* associated disease. *Gut.* 2001;48(6):743-7.
38. Sambrook J, Russel D. *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. 3ra ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. EU. 2001.
39. Ho SA, Hoyle JA, Lewis FA, Secker AD, Cross D, Mapstone NP, et al. Direct polymerase chain reaction test for detection of *Helicobacter pylori* in humans and animals. *J Clin Microbiol* 1991;29(11): 2543-2549.
40. Fernández TG, Román RA, Martínez CDN. *Manual de técnicas de laboratorio*. Laboratorio de Investigación Clínica Lab Inv Clin UAFCQB. UAG 2005.
41. Tosi MF and Czinn SJ. Opsonic activity of specific human IgG against *Helicobacter pylori*. *J. Infect. Dis.* 1990;162,156–162.
42. Yokota S, Amano k, Hayashi S, Kubota T, Fujii N, and Yokochi T. Human Antibody Response to *Helicobacter pylori* Lipopolysaccharide: Presence of an Immunodominant Epitope in the Polysaccharide Chain of Lipopolysaccharide. *Infect. Immun.* 1998;66, 3006–3011.
43. Jimenez-Sanchez G, Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, et al. Analysis of genomic diversity



- in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. PNAS. 2009;106, 8611–8616.
44. Díaz-Mata D, Sánchez- Tacuba C, Flores-Alfaro E, Salgado-Bernabé A, Román-Román A, Fernández-Tilapa G. Prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*Helicobacter pylori* en personas sin sintomatología gástrica de la ciudad de Chilpancingo, Guerrero. Revista salud pública y nutrición. Edición especial. 2007; 8(7):1-6 ISSN1870-0160.
  45. Leal-Herrera Y, Torres J, Perez-Perez G, Gomez A, Monath T, Tapia-Conyer R, and Muñoz O. Serologic IgG response to urease in *Helicobacter pylori*-infected persons from Mexico. Am J Trop Med Hyg 1999; 60(4): 587-592.
  46. López-Vidal Y, Ponce-de-León S, Castillo-Rojas G, Barreto-Zúñiga R, Torre-Delgadillo A. High diversity of *vacA* and *cagA* *Helicobacter pylori* genotypes in patients with and without gastric cancer. PLoS One. 2008;3(12):3849.
  47. Partida-Rodríguez O, Torres J, Flores-Luna L, Camorlinga M, Nieves-Ramírez M, Lazcano E, Perez-Rodríguez M. Polymorphisms in TNF and HSP-70 show a significant association with gastric cancer and duodenal ulcer. Int J Cancer. 2009.
  48. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Borén T, Rad R, Schepp W, Miehke S, et al. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. PNAS 1999;96:12778-12783.
  49. Takuji M, Sugiyama T, Komatsu Y, Ishizuka J, Kato M, and Asaka M. Clinical Relevance of the *babA2* Genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese Clinical Isolates. J. Clin. Microbiol. 2001;39:2463-2465.
  50. Torres LE, Melián K, Moreno A, Alonso J, Sabatier CA, Hernández M, Bermúdez L, Rodríguez BL. Prevalence of *vacA*, *cagA* and *babA2* genes in Cuban *Helicobacter pylori* isolates. World J Gastroenterol. 2009 14;15(2):204-10.
  51. Paniagua GL, Monroy E, Rodríguez R, Arroniz S, Rodríguez C, Cortés JL, Camacho A, et al. Frequency of *vacA*, *cagA* and *babA2* virulence markers in *Helicobacter pylori* strains isolated from Mexican patients with chronic gastritis. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2009 30;8:14.
  52. González-Valencia G, Atherton JC, Muñoz O, Dehesa M, Garza AM, Torres J. *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genotypes in Mexican adults and children. J Infect Dis. 2000;182(5):1450-4.
  53. Morales-Espinosa R, Castillo-Rojas G, Gonzalez-Valencia G, Ponce de León S, Cravioto A, Atherton JC, López-Vidal Y. Colonization of Mexican patients by multiple *Helicobacter pylori* strains with different *vacA* and *cagA* genotypes. J Clin Microbiol. 1999; 37(9):3001-4.
  54. Miller DN, Bryant JE, Madsen EL, Ghiorse WC. Evaluation and optimization of DNA extraction and purification procedures for soil and sediment samples. Appl Environ Microbiol. 1999;65(11): 4715-4724.
  55. Parra-Rojas I, Ruiz-Madrugal B, Martínez-López E, Panduro A. Influence of the -308 TNF-alpha and -174 IL-6 polymorphisms on lipid profile in Mexican subjects. Hereditas. 2006;143:167-72.

56. Torres J, Lopez L, Lazcano E, Camorlinga M, Flores L, Muñoz O. Trends in *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer in Mexico. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14:1874-1877.
57. Segal ED, Cha J, Lo J, Falkow S, Tompkins LS. Altered states: involvement of phosphorylated CagA in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci*. 1999; 96:14559-64.
58. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, Mcdevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci*. 1997; 94(7): 3195-3199.
59. Zúñiga J, Vargas-Alarcón G, Hernández-Pacheco G, Portal-Celhay C, Yamamoto-Furusho JK, Granados J. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphisms in Mexican patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Genes Immun*. 2001;2(7): 363-6.
60. Machado JC, Figueiredo C, Canedo P, Pharoah P, Carvalho R, Nabais S, *et al*. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gastroenterology*. 2003;125(2):364-71.
61. Taudorf S, Krabbe KS, Berg RMG, Møller K, Pedersen BK, Bruunsgaard H. Common studied polymorphisms do not affect plasma cytokine levels upon endotoxin exposure in humans. *Clin Exp Immunol*. 2008;152(1): 147-152.
62. De Jong BA, Westendorp RGJ, Bakker AM, Huizinga TW. Polymorphisms in or near tumour necrosis factor (TNF)-gene do not determine levels of endotoxin-induced TNF production. *Genes Immun*. 2002;3(1):25-9.
63. Skoog T, Van't Hooft FM, Kallin B, Jovinge S, Boquist S, Nilsson J, *et al*. A common functional polymorphism (C-->A substitution at position -863) in the promoter region of the tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene associated with reduced circulating levels of TNF-alpha. *Hum Mol Genet*. 1999;8(8): 1443-9.
64. Tabibzadeh S, Satyaswaroop PG, Von Wolff M, Strowitzki T. Regulation of TNF-alpha mRNA expression in endometrial cells by TNF-alpha and by oestrogen withdrawal. *Mol Hum Reprod*. 1999;5(12): 1141-9.
65. Kunstmann E, Epplen C, Elitok E, Harder M, Suerbaum S, Peitz U, *et al*. *Helicobacter pylori* infection and polymorphisms in the tumor necrosis factor region. *Electrophoresis*. 1999;20(8): 1756-61.
66. Martínez Carrillo DN. *Helicobacter pylori* y polimorfismos -511C/T y -31T/C de la IL-1B en pacientes con gastritis crónica y úlcera gástrica [tesis]. Guerrero: Laboratorio de Investigación Clínica, Universidad Autónoma de Guerrero; 2009.
67. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). II Censo de población y vivienda, 2005.
68. Lanas A, García-González MA, Santolaria S, Crusius JB, Serrano MT, Benito R, *et al*. TNF and LTA gene polymorphisms reveal different risk in gastric and duodenal ulcer patients. *Genes Immun*. 2001;2(8): 415-21.