

RELACION ENTRE *HELICOBACTER SPP* Y CÉLULAS PRODUCTORAS DE GASTRINA EN ESTÓMAGO DE CERDO.

Virginia Hebe Mac Loughlin Roy¹, Cecilia Ines Merkis², Pascual Guillermo Dauría Maglione³, Andrea Cristofolini⁴, Facundo Ubaldo Bonino Destribats⁵, Graciela Esther Sagripanti Centeno⁶, Eva Gabriela Sanchis⁷, Leandro Domingo Ritta⁸, Maria Carolina Grosso Pratto⁹, Francisco Savino¹⁰.

1 Dra. JTP exclusiva, categoría V, Histología - FAV.UNRC- Río Cuarto- Argentina.

2 Dra, JTP exclusiva, categoría III, Área microscopía electrónica-FAV.UNRC- Río Cuarto- Argentina

3 MSC, Prof Asociado, categoría III, Histología-FAV.UNRC- Río Cuarto- Argentina

4 Dra, TP5, Área microscopía electrónica- FAV.UNRC- Río Cuarto- Argentina

5 JTP exclusivo, categoría V, Bioestadística- FAV.UNRC- Río Cuarto- Argentina

6 Histotecnóloga, Histología-FAV.UNRC-Río Cuarto-Argentina

7 Dra. Becaria posdoctoral Conicet, Min Ey TCba., FAV.UNRC-Río Cuarto-Argentina

9 Ayudante alumno, Tec. En Laboratorio, Histología-FAV.UNRC-Río Cuarto-Argentina

10 Dra, Ayudante de 1º exclusiva, categoría III, Histología-FAV.UNRC-Río Cuarto- Argentina.

11-Ayudante alumno. Alumno carrera Medicina Veterinaria. FAV.UNRC-Río Cuarto- Argentina.

Correo electrónico del primer autor: vmacloughlin@ayv.unrc.edu.ar

RESUMEN

La secreción de ácido gástrico es controlada principalmente por la hormona gastrina, la cual es sintetizada por las células G de la mucosa estomacal. El *Helicobacter pylori* altera el control inhibitorio de la liberación de gastrina y esto resulta en una excesiva secreción ácida provocando úlceras pépticas. Estudios realizados confirman la implicancia del *Helicobacter spp* en patologías gástricas del hombre y otras especies animales, entre ellas el cerdo. Estas bacterias podrían ser patógenos responsables de zoonosis. En el presente trabajo se estudió la relación entre *Helicobacter spp* y la funcionalidad de las células productoras de gastrina en biopsias gástricas de cerdos. Se determinó la presencia de *Helicobacter spp* en biopsias gástricas de cerdos mestizos (región antral) con diagnóstico

de gastritis obtenidas de Frigoríficos de la zona de Río Cuarto. La detección de células G se realizó por técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos comerciales. Se determinó el porcentaje de células gastrina positivas en muestras de cerdos gastritis H(+)/(-). En el presente estudio no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos gastritis agudas *Helicobacter* H(+)/(-) ($p=0,3895$). Si existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos gastritis crónicas H(+)/(-) ($p<0,0001$). En este estudio los resultados nos indican que el aumento de gastrina es independiente a la presencia o no de *Helicobacter* en aquellas muestras gastritis agudas, en contraposición a lo que sucede en humanos y en los grupos con gastritis crónicas, donde las diferencias no sólo se refieren a la concentración de gastrina sino al aumento en el número de células que la producen.

PALABRAS CLAVES: Biopsias gástricas, *Helicobacter spp*, gastrina, células G.

INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter spp*, es un microorganismo Gram negativo que se aloja en la mucosa gástrica y es considerado la principal causa de úlcera péptica (1, 4; 10). Estudios realizados confirman la implicancia del *Helicobacter spp* en patologías gástricas del hombre y otras especies animales, una de ellas el cerdo (2, 5). Hasta el presente se han identificado 13 especies incluidas en el género *Helicobacter*, la mayoría de las cuales son colonizadoras eficientes del estómago de los mamíferos, las mismas pueden causar lesiones de manera análoga tanto en humanos como en animales (10). Es por ello que estas bacterias podrían ser patógenos responsables de zoonosis (11).

Existen ahora sustanciales evidencias que esta bacteria trastorna la regulación fisiológica de la secreción ácida y de este modo predispone a la ulceración. La secreción de ácido gástrico es principalmente controlada por la hormona gastrina, la cual es sintetizada por las células G de la mucosa antral. Cuando la gastrina es liberada, ingresa a la circulación sistémica y estimula las células parietales para secretar ácido clorhídrico. El *Helicobacter pylori* trastorna el control inhibitorio de la liberación de gastrina y esto resulta en una excesiva secreción ácida provocando úlceras pépticas (9; 10). Los porcinos desarrollan de manera natural y frecuente úlceras gastroesofágicas (UGE), se han observado úlceras colonizadas por *Helicobacter spp*. Investigaciones realizadas en Colombia establecieron una prevalencia de úlceras gástricas porcinas de 34.8% en animales sacrificados en matadero relacionado a *Helicobacter spp* en la producción de lesiones gástricas (6,7). Sin embargo hay escasos reportes de *Helicobacter spp* en mucosa gástrica de cerdos en Argentina.

En el presente trabajo se estudió la relación entre *Helicobacter spp* y la funcionalidad de las células productoras de gastrina en biopsias gástricas de cerdos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de estómagos de cerdos mestizos de diferentes edades y sexos, provenientes de frigoríficos de la zona de Río Cuarto, Argentina, dichos animales destinados a faena y considerados libres de enfermedad, de acuerdo a la examen clínico y postmortem realizado. Se procesaron 80 biopsias gástricas tomadas principalmente de la región antral, las mismas, se lavaron con solución salina de Hank's (SSH) (Gibco) y fueron inmediatamente fijadas con formol salino tamponado. Una vez fijadas fueron sometidas a la técnica histológica convencional; se deshidrataron con baterías de alcoholes de graduación creciente, y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes histológicos de aproximadamente 4 µm, parte de los cortes fueron teñidos con técnicas de tinción Hematoxilina-eosina para el diagnóstico de gastritis y con tinción de Giemsa y Warthin Starry para la detección de *Helicobacter spp*. El resto de los cortes fueron sometidos a estudios inmunohistoquímicos para la detección de *Helicobacter spp* y de células G utilizando anticuerpos comerciales.

Una vez realizado el diagnóstico histopatológico se procedió a dividir las biopsias gástricas en diferentes grupos

Grupo C: cerdos G/H+: Cerdos con gastritis agudas con presencia de *Helicobacter spp*.

Grupo D: cerdos G/H- : Cerdos con gastritis agudas sin presencia de *Helicobacter spp*.

Grupo E: cerdos G/H+: Cerdos con gastritis crónicas con presencia de *Helicobacter spp*.

Grupo F: cerdos G/H- : Cerdos con gastritis crónicas sin presencia de *Helicobacter spp*.

Grupo G: Cerdos con mucosas gástricas normales

La adquisición de las imágenes se realizaron mediante una cámara digital Powershot G6, 7.1 Megapíxeles (Canon Inc, Japón) adosada al microscopio óptico.

Para realizar el estudio estadístico se procedió a contar la cantidad de células positivas a gastrina tomando 5 campos al azar, luego se determinó el porcentaje de células positivas a gastrina y se realizó una Prueba T para muestras independientes utilizando el programa estadístico InfoStat versión 2011 (3).

RESULTADOS

La evaluación histopatológica de las muestras nos permite observar en la Figura 1 una biopsia de mucosa gástrica con diagnóstico de gastritis; en la cual podemos visualizar la lámina propia con un infiltrado leucocitario importante.

En la Figura 2 muestra una biopsia gástrica teñido con Giemsa con diagnóstico de gastritis donde se observa la presencia de bacterias con forma bacilar correspondientes a *Helicobacter spp.*

Al realizar la inmunodetección de las células G productoras de gastrina se observa en la Figura 3 la presencia de dichas células en una biopsia gástrica con diagnóstico de gastritis aguda *Helicobacter* (+).

La Figura 4 muestra la presencia de células G productoras de gastrina en una biopsia gástrica de la región antral de cerdo con diagnóstico de gastritis crónica H(+).

Con la tinción de Warthin Starry en una biopsia gástrica de la región antral de cerdos con diagnóstico de gastritis aguda H(+) se detectó la presencia de *Helicobacter spp* (Figura 5).

Al evaluar el porcentaje de células gastrina positivas en los animales de los grupos C y D se observó que no existen diferencias significativas entre los valores medios poblacionales ($p=0,38$). Los resultados de la inmunomarcación de gastrina en los grupos E y F evidenciaron diferencias significativas ($p<0,0001$). Las muestras del grupo C con respecto al grupo control no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,99$). Al contrastar las muestras de los grupos G y E se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.0002$).

DISCUSIÓN

En este estudio los resultados histopatológicos corroboran lo dicho por otros investigadores ya que en las biopsias gástricas obtenidas se pudo observar la presencia de un infiltrado leucocitario y de lesiones compatibles con gastritis agudas y crónicas. Estas lesiones pudieron ser comprobadas a través de tinciones histológicas convencionales.

La evaluación histológica además reveló la presencia de bacterias espiraladas que concuerdan con las descripciones previas de *Helicobacter spp.* se observó que la colonización de estos microorganismos fue mayor en la región antral (2,6,7).

Este hallazgo confirma lo reportado por otros investigadores que observaron la presencia del *Helicobacter spp* en el estómago de cerdos, los mismos sugieren que los

microorganismos observados se presentan colonizando en mayor frecuencia la mucosa fúndica y pilórica, otros investigadores asociaron la gastritis pilórica con la infección por esta bacteria en el cerdo (2,6,7).

La infección por *Helicobacter spp*, como afirman varias investigaciones, produce anomalías importantes en la secreción de hormonas gastrointestinales por el antro gástrico, entre ellas la producción de gastrina. Estas anomalías tienen consecuencias importantes en la fisiopatología gástrica y en la causa de la ulceración. Hasta el momento, las investigaciones se referían al aumento de esta hormona en cuanto a su concentración sérica (2,10). En el presente estudio los resultados obtenidos nos indican que el aumento de gastrina no solo se refiere a su concentración, como establece Sleingsinger et al., 2000 sino también al aumento en el número de células que las producen.

CONCLUSIONES

En este estudio los resultados nos indican que el aumento de gastrina es independiente a la presencia o no de *Helicobacter* en aquellas muestras con gastritis agudas, en contraposición a lo que sucede en humanos detectado en estudios previos.

En los grupos con diagnóstico de gastritis crónicas, las diferencias no sólo se refieren a la concentración de gastrina sino al aumento en el número de células que la producen.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Cárdenas Y, Castro V, Nevett A, Patiño P, Undaneta G.(2006) Apoptosis and *Helicobacter pylori*: a new model for infectious oncogenesis. VITAE Academia Biomédica Digital; nº 29.
- 2- Eaton KA, Cover TL, Tummuru MKR, Blaser MJ, Krakowka S. (1997). Role of Vacuolating cytotoxin in Gastritis Due to *Helicobacter pylori* in gnotobiotic Piglets. *Infect Imm*, 65: 3462-3464.
- 3- Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C. InfoStat versión 2011. (2011). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- 4- Lopez- Brea M, Alarcón T, Domingo D, Perez- Perez G, Correa P, Shirrow M. (2006). Retos para el Siglo XXI. On line. Citado en www.helicobacterspain.com.

- 5- Odriozola V, Helicobacter gastricos en caninos y felinos. (2011). Asociacion Argentina de Medicina Felina. <http://www.aamefe.org/helicobacter.htm>- 2011.
- 6- Rodriguez BJ, Aranzazu D, Giraldo GE, Alvarez LC, Lopera JA, Valencia F. (2008). Determinación de Helicobacter spp en cerdos en el departamento de Antioquia, Colombia. Rev Rev. Colombiana de Cs. Pecuarias; 21:210-218.
- 7- Rodriguez BJ, Aranzazu D, Ortiz L. (2009). Association of gastric ulcer and Helicobacter spp in pigs in Antioquia, Colombia. Rev. Colombiana de Cs. Pecuarias; 22:54-60.
- 8- Fox JG, Dangler CA, Sager W, Borkowski R, Gliato JM. (1997). Helicobacter mustelae associated gastric adenocarcinoma in ferrets (Mustelae putorius furo). Vet Pathol; 34:125-129.
- 9- Mc Coll K, El-Omar R, Guillen D.(1997). The role of Helicobacter pylori in the pathophysiology of duodenal ulcer and gastric cancer. Semin Gastrointest disease, 8:142-155.
- 10- Sleisenger MH, Mark Feldman MD, Bruce MD, Scharsch Midt K, Samuel Klein MB. (2000). Enfermedades gastroduodenales y hepáticas .Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. 6º edición. Editorial Panamericana.Madrid. 649-61.
- 11- Vale F, Vitor JM.(2010). Trasmisión pathway of Helicobacter pylori Does food play a role un rural and urban areas?. Int. Journal of food Microbiology. 38:1-12.

ANEXOS

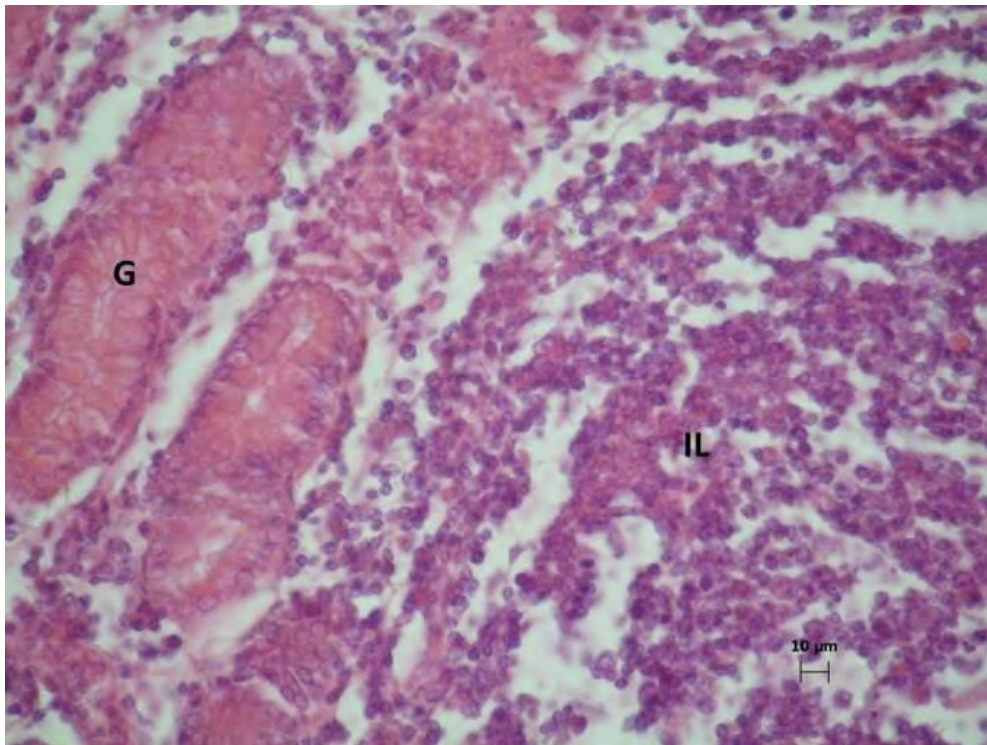


Figura 1: Microscopía óptica de biopsias gástricas, región antral con diagnóstico de gastritis. LP: lámina propia. G: glándula gástrica. IL: infiltrado leucocitario. Tinción H/E, 400 x.

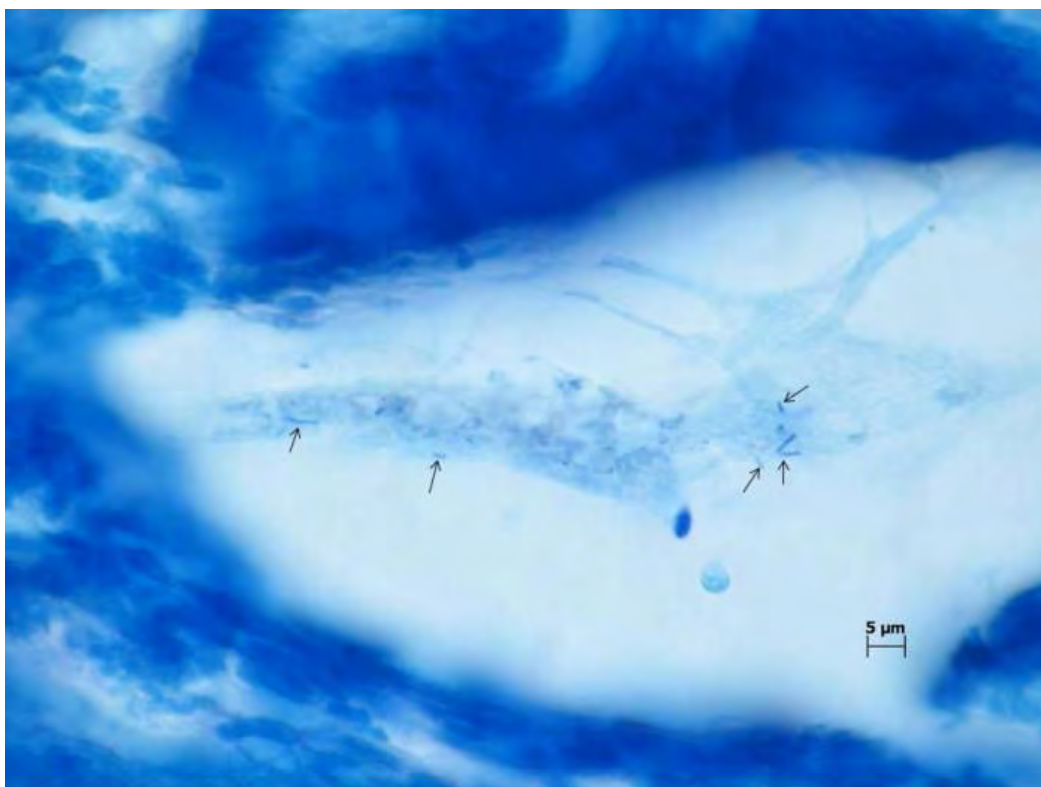


Figura 2- Microscopía óptica de biopsias gástrica, región antral con diagnóstico de gastritis H(+). *Helicobacter* spp. Tinción de Giemsa, 1000 x.

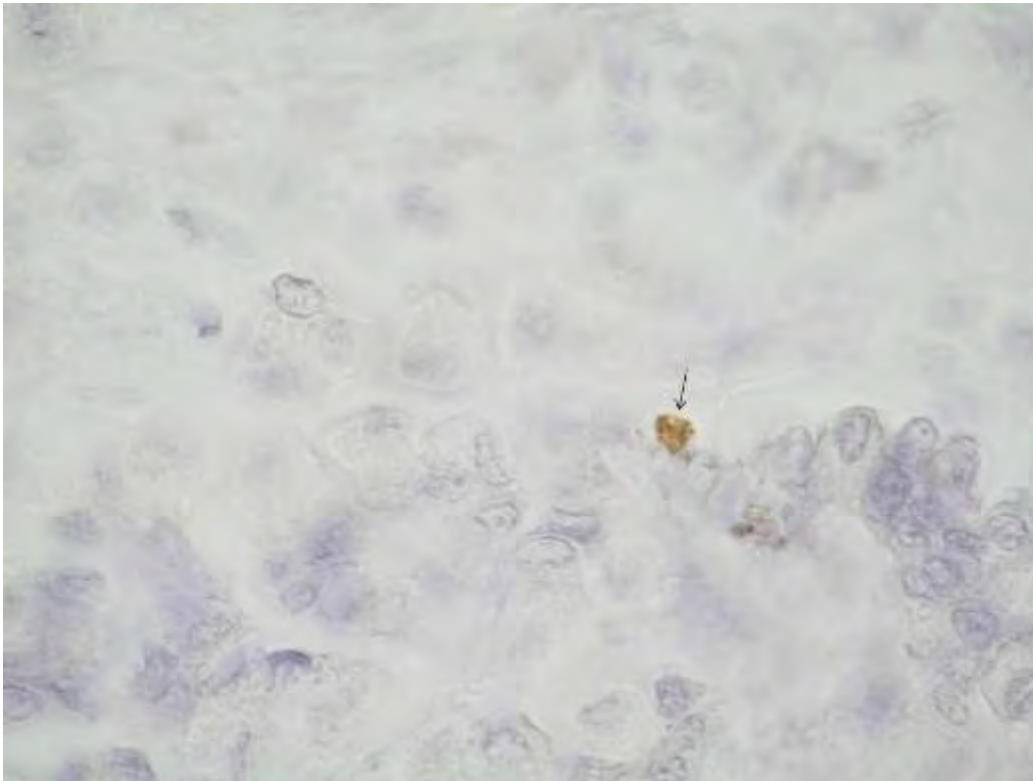


Figura 3- Inmunoeexpresión de células productoras de gastrina en biopsia gástrica con diagnóstico de gastritis aguda H (+). 1000x.

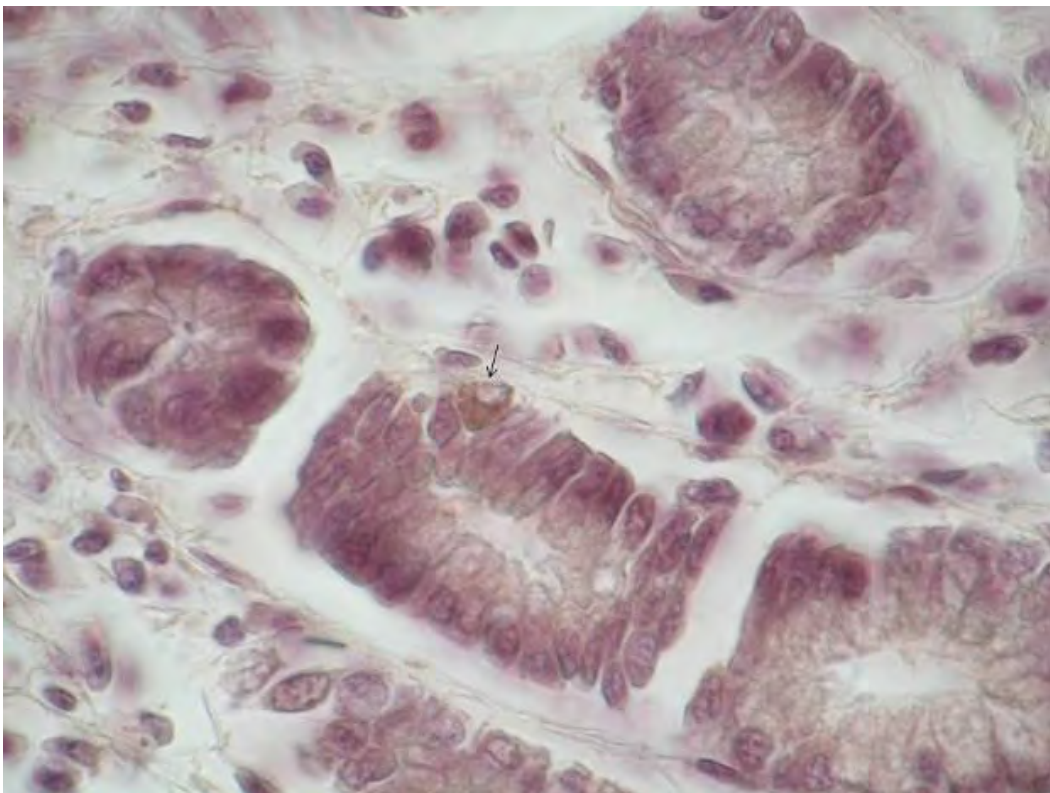


Figura 4-Inmunoeexpresión de células productoras de gastrina en biopsia gástrica con diagnóstico de gastritis crónica H (+). 1000x.

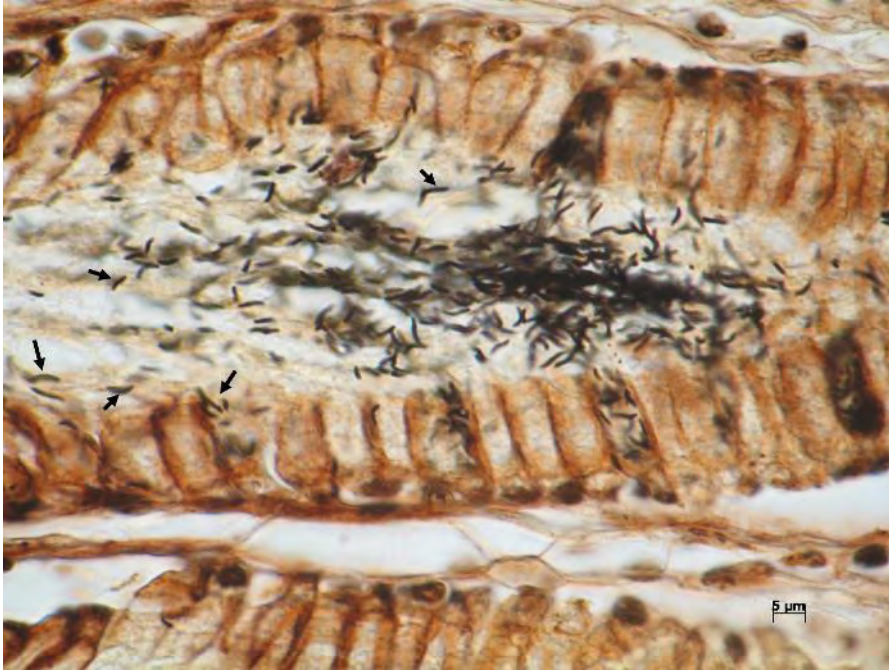


Figura 5: Microfotografía de biopsia gástrica región antral coloreada con la tinción de Warthin-Starry en donde se observan *Helicobacter spp.*, 1000x