

ORIGINAL

Estudio histopatológico de la presencia de bacterias tipo *Helicobacter pylori* en especímenes quirúrgicos con colecistitis crónica

Gabriel Arismendi-Morillo^{a,b,*}, Verónica Cardozo-Ramones^b, Gustavo Torres-Nava^b y Zoila Romero-Amaro^b

^a Instituto de Investigaciones Biológicas, Laboratorio de Investigaciones Gastrointestinales, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

^b Servicio y Posgrado de Anatomía Patológica, Hospital General del Sur Dr. Pedro Iturbe, Maracaibo, Venezuela

Recibido el 14 de enero de 2011; aceptado el 10 de mayo de 2011

Disponible en Internet el 16 de julio de 2011

PALABRAS CLAVE

Colecistitis crónica;
Litiasis vesicular;
Helicobacter pylori

Resumen

Introducción: Recientemente se ha encontrado que especies de *Helicobacter* tienen alguna relación con ciertas enfermedades del árbol biliar; sin embargo, esto aún no está clara su vinculación y requiere mayores estudios. El propósito de este estudio fue determinar la presencia de bacterias tipo *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) en pacientes con diagnóstico de colecistitis crónica, mediante el estudio histopatológico de los especímenes quirúrgicos de vesícula biliar.

Materiales y métodos: Se estudiaron anatomopatológicamente las piezas quirúrgicas de vesícula biliar de pacientes con diagnóstico de colecistitis crónica. Se establecieron las características macroscópicas de los especímenes. Los cortes histopatológicos se tiñeron con hematoxilina-eosina y con Giemsa.

Resultados: De los 68 pacientes a los que se practicó colecistectomía, 56 (81%) correspondieron a mujeres, y 12 (19%) hombres. La edad promedio fue $39,56 \pm 11,94$ años. La presencia de bacterias tipo *H. pylori* fue de 6%.

Conclusión: Los resultados de este estudio no permiten establecer que la presencia de las bacterias tipo *H. pylori* constituyan un factor importante en la etiología y/o patogenia de colecistitis crónica. En los pacientes con colecistitis crónica que reciben colecistectomía que se estudiaron en el presente trabajo, la etiología de la enfermedad crónica pudiese vincularse de manera más evidente con la presencia de formaciones calculosas.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: gabrielarismendi@gmail.com (G. Arismendi-Morillo).

KEYWORDS

Chronic cholecystitis;
Gallstones;
Helicobacter pylori

Histopathological study of the presence of *Helicobacter pylori*-type bacteria in surgical specimens from patients with chronic cholecystitis**Abstract**

Introduction: *Helicobacter* species have recently been found to be associated with some diseases of the biliary tree but this relationship remains unclear and further studies are required. The aim of this study was to determine the presence of *H. pylori*-type bacteria in patients with a diagnosis of chronic cholecystitis through histopathological study of surgical gallbladder specimens.

Materials and methods: Surgical gallbladder specimens from patients with a diagnosis of chronic cholecystitis were examined histopathologically. The macroscopic characteristics of the specimens were identified. Histopathological slices were stained with hematoxylin-eosin and Giemsa.

Results: Of the 68 patients who underwent cholecystectomy, 56 (81%) were women and 12 (19%) were men. The mean age was 39.56 ± 11.94 years. *H. pylori*-type bacteria were found in 6%.

Conclusions: The results of this study do not allow us to conclude that the presence of *H. pylori*-type bacteria is a major factor in the etiology and/or pathogenesis of chronic cholecystitis. In patients with chronic cholecystitis undergoing cholecystectomy included in the present study, the etiology of the disease may be more closely linked with the presence of gallstones.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Se ha demostrado que *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) está muy relacionado con la gastritis crónica, úlcera péptica, carcinoma gástrico y linfoma maligno del tejido linfoide asociado a mucosa^{1,2}. Recientemente se ha encontrado que *H. pylori* tiene alguna relación con algunas enfermedades en otros órganos, además de estómago y duodeno, como el hígado y la vesícula biliar; sin embargo, esto aún no está clara su vinculación y requiere mayores estudios³.

En múltiples estudios se ha determinado la presencia del ADN de especies de *Helicobacter*, incluido el patógeno humano *H. pylori*, en la bilis, hígado y epitelio biliar, obtenido de pacientes con colecistitis crónica, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular, colangitis esclerosante primaria y cirrosis biliar primaria^{2,4-6}.

Existen resultados discordantes en cuanto la presencia de las especies de *Helicobacter* en enfermedades de diferente naturaleza, que afectan al «aparato hepato-biliar». Matsukura et al⁷ determinaron que la concentración de ADN de *Helicobacter bilis* fue mayor en la secreción biliar de pacientes de japoneses y tailandeses con carcinoma de vesícula o conductos biliares que en aquellos casos sin enfermedad maligna del tracto biliar. Bulajic et al⁸ realizaron un estudio en la región de los Balcanes en el cual se asoció la presencia de ADN específico para *H. pylori* en la bilis con carcinoma del tracto biliar, pero no se demostró en los pacientes con litiasis, así como en los pacientes sin enfermedad biliar. Al contrario, no se detectó la presencia de ADN de *Helicobacter* sp. en la secreción biliar o vesícula biliar de pacientes con enfermedad del tracto biliar en Alemania y México^{9,10}.

En el caso particular de la colecistitis crónica, Fox et al⁴ establecieron la presencia del ADN de varias cepas de *Helicobacter* en el tejido biliar de pacientes chilenos con colecistitis crónica. Por su parte, Chen et al¹¹ determinaron la presencia de *H. pylori* en la superficie de las células epiteliales que revisten la mucosa de la vesícula biliar, en espacios

intercelulares y en espacios glandulares, en pacientes con colecistitis crónica. Derivado de estos hallazgos, múltiples autores han sugerido una posible relación etiológica entre la bacteria *H. pylori* y la colecistitis crónica^{3-10,12,13}. Esta enfermedad se destaca entre las principales causas de morbilidad quirúrgica en todo el mundo.

El propósito de este estudio fue determinar la presencia de bacterias tipo *H. pylori* en pacientes con diagnóstico de colecistitis crónica, mediante el estudio histopatológico de los especímenes quirúrgicos de vesícula biliar.

Materiales y métodos

Se estudiaron macroscópicamente e histopatológicamente piezas quirúrgicas correspondientes a colecistectomías remitidas al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General del Sur Dr. Pedro Iturbe de Maracaibo-Venezuela, de los pacientes con diagnóstico de colecistitis crónica que recibieron colecistectomía durante el año 2009. Se excluyeron los casos con diagnóstico clínico e histopatológico de colecistitis aguda.

Se establecieron las características macroscópicas de las piezas, considerando la presencia de formaciones calcificadas, características de la mucosa, de la pared del órgano y de la serosa. Desde el punto de vista microscópico, se evaluó la presencia de infiltrado inflamatorio mononuclear linfohistiocitario, hipertrofia de la muscular y fibrosis parietal (hallazgos histopatológicos correspondientes a colecistitis crónica). Los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina y con Giemsa. Las láminas teñidas con hematoxilina-eosina se estudiaron con el objeto de establecer las características propias de la colecistitis crónica y establecer la presencia o ausencia de bacterias tipo *H. pylori* de acuerdo con los criterios morfológicos clásicos. Las láminas teñidas con Giemsa se estudiaron con el objeto establecer la presencia o ausencia de bacterias tipo *H. pylori*.

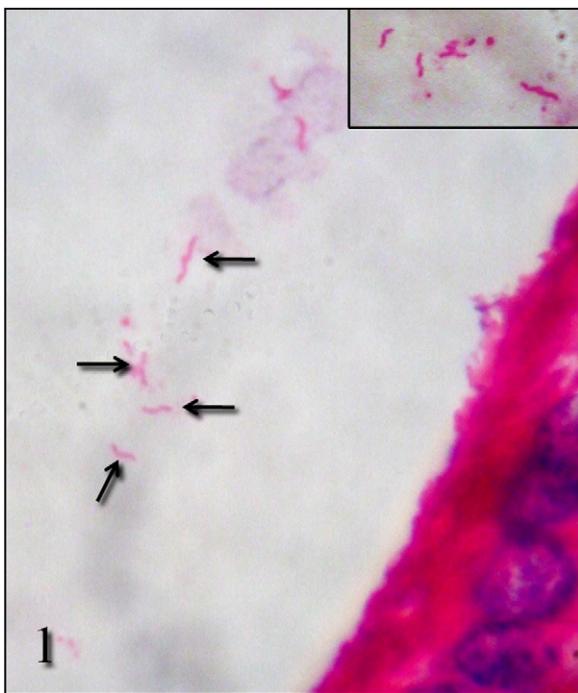


Figura 1 Presencia de bacterias tipo *Helicobacter pylori* (flechas) localizadas en la superficie mucosa (X100 -Inmersión). El recuadro muestra una mayor magnificación de las bacterias tipo *Helicobacter-pylori*. CE: células epiteliales.

Resultados

Durante el periodo de estudio, se seleccionaron 68 casos de pacientes con diagnóstico de colecistitis crónica que fueron sometidos a colecistectomía. Cincuenta y seis (81%)

Tabla 1 Hallazgos patológicos relevantes en 68 especímenes quirúrgicos de colecistectomía con colecistitis crónica

| Hallazgo patológico | N. de casos (%) |
|--|-----------------|
| <i>Infiltrado inflamatorio mononuclear</i> | 68 (100) |
| <i>Hipertrofia de la muscular</i> | 68 (100) |
| <i>Fibrosis parietal</i> | 68 (100) |
| <i>Atrofia de la mucosa</i> | 20 (29,4) |
| Difusa | 11 (16,1) |
| Focal | 9 (13,2) |
| <i>Colesterolosis</i> | 20 (29,4) |
| <i>Formaciones calculosas</i> | 48 (70,5) |

correspondieron al género femenino y 12 (19%) al masculino. La edad promedio fue $39,56 \pm 11,94$ años. De los 68 casos examinados histológicamente, en 4 (6%) se puso de manifiesto la presencia de bacterias tipo *H. pylori*. De éstos, 2 se identificaron mediante la tinción de hematoxilina y eosina (**fig. 1**) y 2 a través de la tinción de Giemsa. En todos los casos la cantidad de microorganismos observados fue muy escasa.

Los hallazgos patológicos relevantes observados en el examen histopatológico se muestran en la **tabla 1**. Todos los especímenes quirúrgicos examinados mostraron hallazgos histopatológicos correspondientes a colecistitis crónica, dado que presentaron infiltrado inflamatorio mononuclear linfohistiocitario, hipertrofia de la muscular y fibrosis parietal (**fig. 2**). En 20 casos (29,4%) se observó atrofia de la mucosa. Once (16,1%) presentaron atrofia difusa y 9 (13,2%) de distribución focal. Veinte casos tenían colesterolosis focal (29,4%). Cuarenta y ocho (70,5%) especímenes contenían formaciones calculosas.

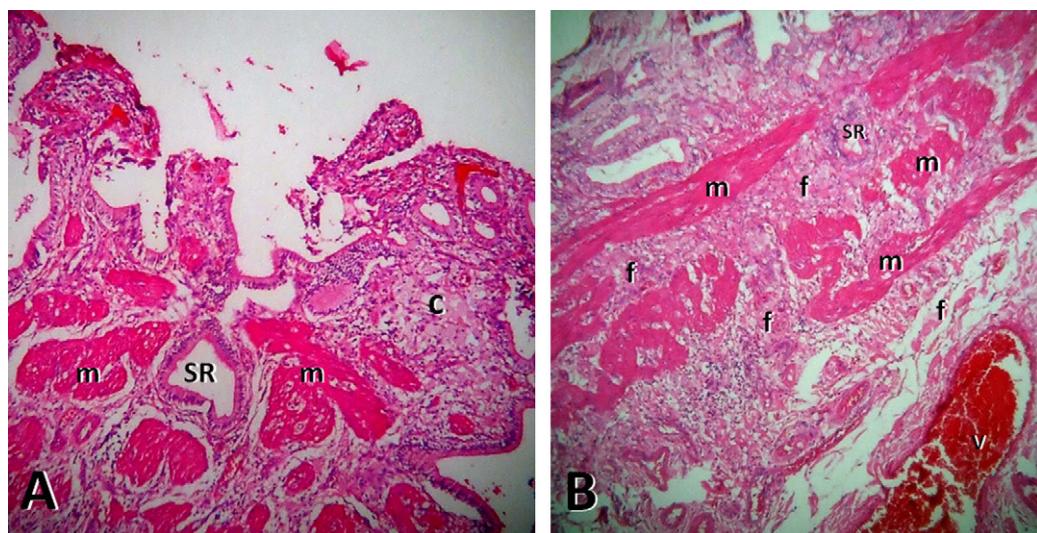


Figura 2 Hallazgos histopatológicos correspondientes a colecistitis crónica. A) Área de mucosa que evidencia atrofia, expansión de la lámina propia por infiltrado inflamatorio linfohistiocitario, foco de colesterolosis (c). La capa muscular exhibe hipertrofia (m) y un seno de Rokitanski-Aschoff (SR). Hematoxilina-eosina, X10. B) Área de la pared de una vesícula biliar en la que se observa hipertrofia de la capa muscular (m) y fibrosis parietal (f). V señala un vaso sanguíneo congestivo. SR indica un seno de Rokitanski-Aschoff (hematoxilina-eosina, X2,5).

Discusión

En este estudio anatopatológico utilizando técnicas tinteriales rutinarias como la hematoxilina-eosina y Giemsa se evidenció que la presencia de bacterias tipo *H. pylori* es baja (6%). Este estudio solo se limitó al examen anatopatológico con tinciones habituales. A pesar de que la utilización de la técnica PCR para la detección del ADN bacteriano eleva sustancialmente la prevalencia de la infección por bacterias tipo *Helicobacter*, sin embargo, su empleo es limitado en contextos clínicos. Abayli et al¹⁴ demostraron la presencia de bacterias tipo *H. pylori* en 18 casos (23%) utilizando las tinciones de hematoxilina-eosina, Warthy-Starry y Gram. Moricz et al¹⁵ estudiaron 100 pacientes con colecistitis crónica y la prevalencia del ADN de *Helicobacter spp.* fue de 61,8%, y la presencia de bacilos en el estudio histológico tenido con Giemsa alcanzó el 27,9%. Chen et al¹¹ reportaron la presencia de bacterias tipo *H. pylori* en 13,55% de las vesículas biliares de pacientes con colecistitis crónica, utilizando la tinción de Warthy-Starry. Griniatsos et al¹⁶ identificaron en el examen histopatológico rutinario 4 casos (4,4%) con bacterias tipo *H. pylori* localizadas en el epitelio superficial de 89 vesículas biliares de pacientes con litiasis vesicular. Yucebilgili et al¹⁷ estudiaron 68 casos de colecistitis y colelitiasis; aplicaron cultivo microbiológico, PCR y estudio anatopatológico y concluyeron que no es posible establecer una correlación entre las bacterias tipo *Helicobacter* y las enfermedades biliares. Así mismo, Bostanoglu et al¹⁸ utilizaron técnicas de cultivo microbiológico, PCR, histología e inmunohistoquímica y no detectaron la presencia de microorganismos tipo *Helicobacter* en 47 casos de colecistitis crónica calculosa, y concluyeron que no existe asociación entre la colecistitis y bacterias tipo *Helicobacter*. Por su parte, Chen et al¹⁹ reportaron como común la presencia del ADN de *Helicobacter* en las vesículas biliares de pacientes sintomáticos con cálculos (50%), así como en pacientes con litiasis vesicular asintomáticos (60%), y concluyeron que la infección por *Helicobacter* no puede calificarse como un factor significante o primordial en la formación de cálculos vesiculares y en el desarrollo de la colecistitis crónica. Sin embargo, no excluyen la posibilidad de que *Helicobacter* constituya un cofactor en estos procesos patológicos. Considerando los resultados de este estudio y de los citados en las líneas precedentes, pudiese argumentarse que la presencia de las bacterias tipo *H. pylori* no constituirían un factor importante en la etiología y/o patogenia de colecistitis crónica.

De modo opuesto, Silva et al²⁰ mediante un estudio de las vesículas biliares de 46 pacientes con colelitiasis, detectaron el ADN de *Helicobacter* en 31,3% de los casos, y su presencia se vinculó de modo significante con el hallazgo histopatológico de colecistitis; por lo tanto, concluyeron que sus resultados respaldan la hipótesis de que *Helicobacter* está asociado con la patogenia de la colelitiasis y colecistitis. Por su parte, Karagin et al²¹ aplicaron PCR a 100 especímenes quirúrgicos de vesículas biliares embebidas en parafina y pusieron de manifiesto la presencia de ADN de *Helicobacter* en el 7% de los casos de colecistitis aguda y crónica; y sugirieron una posible relación entre la presencia de ADN de *Helicobacter* y la colecistitis. Con la misma técnica, Lee et al²² detectaron el ADN de *Helicobacter* en 5 (11%) de 46 especímenes de vesículas biliares con colecistitis e

indicaron la posible vinculación de la bacteria con la formación de cálculos biliares. Méndez et al⁹ estudiaron 95 especímenes quirúrgicos de vesículas biliares y solo detectaron un caso positivo para *Helicobacter sp.* mediante inmunohistoquímica y uno positivo con técnicas de PCR (2%). Las diferencias entre las investigaciones pudiesen relacionarse con factores como los niveles de especificidad y sensibilidad de las diversas técnicas de diagnóstico, así como la variabilidad de especímenes evaluados (vesículas biliares, secreción biliar, formaciones calculosas) en cada uno de los estudios. De igual modo, pudiesen intervenir factores geográficos, étnicos, el poder patogénico de las bacterias, características propias del huésped, condiciones socioeconómicas, entre otras. En cualquier caso, todos estos aspectos requieren mayor cantidad de estudios controlados.

La infrecuente presencia de bacterias tipo *H. pylori* en el presente estudio pudiese vincularse con que en la inmensa mayoría de los casos la intervención quirúrgica se realiza de modo electivo e incluye tratamiento tipo antibioterapia en los días previos a la cirugía. Adicionalmente, la escasa cantidad de microorganismos observados en los 4 casos pudiese relacionarse con este factor. Este aspecto no es mencionado por ninguno de los estudios revisados. Por otro lado, la detección de los microorganismos mediante una de las 2 tinciones empleadas pudiese reflejar una distribución focal o multifocal de las bacterias en la superficie de la mucosa.

En los pacientes con colecistitis crónica sometidos a colecistectomía que se estudiaron en el presente trabajo, la etiología de la enfermedad crónica pudiese vincularse de manera más evidente con la presencia de formaciones calculosas (70,5% de los casos). La colecistitis crónica puede ser una secuela de repetidos brotes de colecistitis aguda, de intensidad leve a grave, pero en muchos casos se desarrolla en ausencia de estos episodios previos. Un elevado porcentaje de los casos se vinculan con la presencia de colelitiasis. Por otro lado, la evolución de la colecistitis crónica es dudosa y no está claro si los cálculos tienen un papel directo en el inicio de la inflamación. También existe la posibilidad de la intervención de otro tipo de agentes bacterianos, así como otros factores vinculados con las características físico-químicas de la bilis depositada en la vesícula biliar. Sin embargo, Csendes et al²³ sugirieron que la inflamación de la vesícula biliar puede aparecer antes que las formaciones calculosas, en un número importante de casos.

En resumen, en este estudio anatopatológico utilizando técnicas tinteriales rutinarias como la hematoxilina-eosina y Giemsa se evidenció que la presencia de bacterias tipo *Helicobacter pylori* es baja (6%). Los resultados de este y otros estudios parecieran indicar que la presencia de las bacterias tipo *H. pylori* no constituyen un factor importante en la etiología y/o patogenia de colecistitis crónica. En los pacientes con colecistitis crónica intervenidos de colecistectomía que se estudiaron en el presente trabajo, la etiología de la enfermedad crónica pudiese vincularse de manera más evidente con la presencia de formaciones calculosas. Con el objeto de contribuir con el esclarecimiento de las razones de los resultados controvertidos, pudiese resultar beneficioso realizar un estudio prospectivo con pacientes con colecistitis crónica, con y sin litiasis, del tipo casos y controles, que permita descartar los posibles factores interviniéntes

que eventualmente influirían en la presencia de las bacterias tipo *H. pylori*.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Arnaout AH, Abbas SH, Shousha S. *Helicobacter pylori* is not identified in areas of gastric metaplasia of gall bladder. *J Pathol*. 1990;160:333–4.
2. Monstein HJ, Jonsson Y, Zdolsek J, Svanvik J. Identification of *Helicobacter pylori* DNA in human cholesterol gallstones. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37:112–9.
3. Sabbaghian MS, Ranaudo J, Zeng L, Alongi AP, Perez-Perez G, Shamamian P. Identification of *Helicobacter spp.* in bile and gallbladder tissue of patients with symptomatic gallbladder disease. *HPB (Oxford)*. 2010;12:129–33.
4. Fox JG, Dewhirst FE, Shen Z, Feng Y, Taylor NS, Paster BJ, et al. Hepatic *Helicobacter* species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. *Gastroenterology*. 1998;114:755–63.
5. Huang Y, Fan XG, Chen YP, Li N, Tang LJ. Detection of *Helicobacter* species 16S rRNA gene in paraffin-embedded hepatocellular carcinoma tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*. 2002;10:877–82.
6. Nilsson HO, Mulchandani R, Tranberg KG, Taneera J, Caastedal M, Glatz E, et al. *Helicobacter* species identified in liver from patients with cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2001;120:323–4.
7. Matsukura N, Yokomuro S, Yamada S, Tajiri T, Sundo T, Hadama T, et al. Association between *Helicobacter bilis* in bile and biliary tract malignancies: *H. bilis* in bile from Japanese and Thai patients with benign and malignant diseases in the biliary tract. *Jpn J Cancer Res*. 2002;93:842–7.
8. Bulajic M, Maisonneuve P, Schneider-Brachert W, Muller P, Reischl U, Stimec B, et al. *Helicobacter pylori* and the risk of benign and malignant biliary tract disease. *Cancer*. 2002;95: 1946–53.
9. Méndez-Sánchez N, Pichardo R, González J, Sánchez H, Moreno M, Barquera F, et al. Lack of association between *Helicobacter* sp. colonization and gallstone disease. *J Clin Gastroenterol*. 2001;32:138–41.
10. Rudi J, Rudy A, Maiwald M, Stremmel W. *Helicobacter* sp. Are not detectable in bile from German patients with biliary disease. *Gastroenterology*. 1999;116:1016–7.
11. Chen DF, Hu L, Yi P, Liu WW, Fang DC, Cao H. *H. pylori* exist in the gallbladder mucosa of patients with chronic cholecystitis. *World J Gastroenterol*. 2007;13:1608–11.
12. Lin TT, Yeh CT, Wu CS, Liaw YF. Detection and partial sequence analysis of *Helicobacter pylori* DNA in the bile samples. *Dig Dis Sci*. 1995;40:2214–9.
13. Nilsson HO, Taneera J, Caastedal M, Glatz E, Olsson R, Wadstrom T. Identification of *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species by PCR, hybridization, and partial DNA sequencing in human liver samples from patients with primary sclerosing cholangitis or primary biliary cirrhosis. *J Clin Microbiol*. 2000;38:1072–6.
14. Abayli B, Colakoglu S, Serin M, Erdogan S, Isiksak YF, Tuncer I, et al. *Helicobacter pylori* in the etiology of cholesterol gallstones. *Gastroenterology*. 2005;39:134–7.
15. Moricz A, Melo M, Castro AM, de Campos T, Alterfender Silva R, Monteiro Pacheco Jr A. Prevalence of *Helicobacter spp* in chronic cholecystitis and correlation with changes on the histological pattern of the gallbladder. *Acta Cir Bras*. 2010;25:219–24.
16. Griniatsos J, Sougioultzis S, Giaslakiotis K, Gazouli M, Prassas E, Felekouras E, et al. Does *Helicobacter pylori* identification in the mucosa of the gallbladder correlate with cholesterol gallstone formation? *West Indian Med J*. 2009;58:428–32.
17. Yucebilmiki K, Mehmetoglu T, Gucin Z, Salih BA. *Helicobacter pylori* DNA in gallbladder tissue of patients with cholelithiasis and cholecystitis. *J Infect Dev Ctries*. 2009;3:856–9.
18. Bostanoglu E, Kerahan ZC, Bostanoglu A, Savas B, Erden E, Kiyan M. Evaluation of the presence of *Helicobacter* species in the biliary system of Turkish patients with cholelithiasis. *Turk J Gastroenterol*. 2010;21:421–7.
19. Chen W, Li D, Cannan RJ, Stubbs RS. Common prevalence of *Helicobacter* DNA in the gallbladder of patients with gallstones diseases and controls. *Dig Liver Dis*. 2003;35:237–43.
20. Silva CP, Pereira-Lima JC, Oliveira AG, Guerra JB, Marques DL, Sarmanho L, et al. Association of the presence of *Helicobacter* in gallbladder tissue with cholelithiasis and cholecystitis. *J Clin Microbiol*. 2003;41:5615–8.
21. Karagin PH, Stenram L, Wacistrom T, Liungh A. *Helicobacter* species and common gut bacterial DNA in gallbladder with cholecystitis. *World J Gastroenterol*. 2010;16:4817–22.
22. Lee JW, Lee DH, Lee JI, Jeong S, Kwon KS, Kim HG, et al. Identification of *Helicobacter pylori* in gallstone, bile, and other hepatobiliary tissues of patients with cholecystitis. *Gut Liver*. 2010;4:60–7.
23. Csédes A, Smok G, Burdiles P, Díaz JC, Maluenda F, Korn O. Histological findings of gallbladder mucosa in 95 control subjects and 80 patients with asymptomatic gallstones. *Dig Dis Sci*. 1998;43:931–4.