

## Il ruolo di *Helicobacter pylori* nelle patologie gastroduodenali

M. F. Razazian, G. Di Flumeri\*, C. Varinacci, M. Belloni\*

*Istituto di Microbiologia, Università degli Studi di Brescia*

*\*III Divisione di Chirurgia Generale, Azienda Ospedaliera Spedali Civili Brescia*

**Riassunto:** La scoperta di *Helicobacter pylori* (HBP) ed il suo ruolo patogenetico nell'ambito gastro-duodenale ha portato ad una radicale revisione dei concetti riguardanti comuni malattie come gastrite, duodenite, ulcera gastrica e duodenale e varie neoplasie a livello gastrico. Questa scoperta sostituisce l'ipotesi precedente che stress, fumo, caffè, alcool fossero correlati alla patogenesi di tali malattie, restando in ogni caso delle concause tuttora valide per queste patologie. L'importanza dell'*Helicobacter pylori* come agente eziologico di varie malattie ha favorito la messa a punto di nuove tecniche sensibili e specifiche per permettere una diagnosi certa nel più breve tempo possibile.

**Abstract:** The finding of *Helicobacter pylori* and of its pathogenetic role in both gastric and duodenal diseases has led to a reconsideration of existing views on the aetiology of gastritis, duodenitis, gastric and duodenal ulceration and different gastric neoplasms. This finding replaces the previous hypothesis that stress, smoke, coffee and alcohol were related to the pathogenesis of these diseases, even if they may be associated to them as cofactors. The crucial role played by *Helicobacter pylori* as aetiological agent of several diseases increased the development of new specific and sensitive assays to allow an accurate and rapid diagnosis.

### Generalità

L'*Helicobacter pylori*, precedentemente classificato nel genere *Campylobacter* con il nome di *Campylobacter pyloridis*, è un batterio spiraliforme, microaerofilo, gram negativo, ossidasi e catalasi positivo e presenta un'intensa produzione di ureasi; ha una superficie liscia provvista di 4-6 flagelli unipolari, ognuno dei quali munito di guaine e di bulbo terminale. Il suo habitat naturale è la mucosa gastrica dell'uomo alle cui cellule aderisce attraverso particolari proteine dette "adesine" che interagiscono con alcuni residui glicidici presenti sulla superficie delle cellule, in particolare con la porzione glicidica dell'antigene *Le* presente nei soggetti di gruppo sanguigno "O", nei quali l'osservazione epidemiologica ha dimostrato una maggiore frequenza di ulcera gastrica e di adenocarcinoma gastrico.

### Epidemiologia e frequenza

Una volta si riteneva che gastroduodeniti, ulcera gastrica, ulcera duodenale e tumori gastrici colpisse-

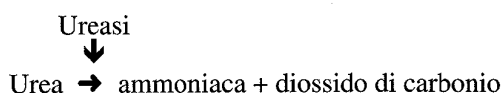
sero più gli uomini rispetto alle donne con rapporto 3:1, in quanto più esposti allo stress; oggi questo rapporto tende a variare, perché anche le donne sono soggette a stress e quindi entrambi sono ugualmente soggetti ad infezione da HBP. Attualmente si ritiene che le malattie sopracitate, una volta erroneamente considerate come patologie da benessere e tipiche dei paesi industrializzati, non siano più tali in quanto l'agente eziologico ovvero *Helicobacter pylori* è ubiquitario e facilmente trasmissibile attraverso la via oro-fecale. Nei Paesi in via di sviluppo queste patologie spesso non vengono statisticamente denunciate sia per scarsi servizi informativi, sia perché l'interesse dedicato alle malattie del luogo (es. in Africa molte malattie tropicali) toglie l'importanza che si deve alle patologie dovute ad HBP. Ciononostante, in Sud Africa, India meridionale, Brasile, Cile, Perù, Arabia Saudita l'infezione è presente dal 13 al 70% nella fascia di età compresa fra 0 e 20 anni e dal 70 al 94% a partire dalla terza decade di vita. I Paesi dell'Europa dell'Est mostrano di condividere questo andamento, con medie di prevalenza variabili tra il 50% ed il 75% dopo i 30 anni di età.

Graham e collaboratori hanno osservato una frequenza due volte maggiore nella razza bianca (70% contro 34%) e precisamente, negli Stati Uniti, l'infezione è presente in circa la metà della popolazione oltre i 50 anni di età, mentre bambini al di sotto dei 10 anni di età sono raramente interessati.

Per quanto riguarda l'Italia, ed in particolare Brescia, lo studio casistico ed epidemiologico, compiuto dall'Istituto di Microbiologia dell'Università degli Studi di Brescia in collaborazione con la III Divisione di Chirurgia dell'Ospedale Civile di Brescia, ha fornito dei dati statistici che confermano la letteratura. Ogni anno pervengono all'osservazione del predetto reparto 1500-2000 pazienti (compresi quelli esterni) con epigastralgia e sospetto di gastroduodeniti e/o ulcera peptica; circa 35 pazienti alla settimana con un rapporto maschi/femmine di 1:1 ed un'età media di 32 anni. Lo 0,1% di questi pazienti non viene clinicamente seguito poiché rifiuta la esofagogastroduodenoscopia considerandola fastidiosa. Tutti gli altri pazienti vengono solitamente sottoposti ad endoscopia il 90% dei quali presenta gastrite, inoltre la maggior parte subisce anche il prelievo biotico poiché serve a valutare il grado d'infiammazione. Nell'ultimo anno vi sono stati 62 casi di ulcera duodenale (99% HBP positivi), 18 casi di ulcera gastrica e 24 casi di adenocarcinoma gastrico.

### Patogenesi di *Helicobacter pylori*

L'HBP si localizza a livello dell'intera mucosa gastrica, con una maggiore concentrazione a livello antrale, più precisamente a livello delle giunzioni intercellulari si lega alle strutture presenti sulla superficie delle cellule. Questo microorganismo produce caratteristicamente una forma molto attiva di ureasi che agisce sull'urea, prodotta dalle cellule mucose, convertendola in ammoniaca e diossido di carbonio.



L'ammoniaca prodotta da questa reazione neutralizza l'acidità presente nell'ambiente gastrico permettendo all'*H. pylori* di sopravvivere, crescere e moltiplicarsi (in quanto si crea attorno al microorganismo un microambiente caratterizzato da un pH 7.5 rispetto all'ambiente acido dello stomaco pH 2); la motilità conferitagli dai numerosi flagelli di cui è dotato gli consentono di spostarsi sullo strato mucoso dello stomaco alla ricerca di zone a pH vicino alla neutralità. L'ammoniaca generata dall'ureasi batterica è

tossica per le cellule eucariotiche e provoca alterazioni della permeabilità dell'epitelio gastrico con retrodiffusione di idrogenioni, a sua volta facilitata da una proteasi batterica capace di degradare le glicoproteine dello strato di mucina sovrastante l'epitelio gastrico, determinando un'infiammazione cronica della mucosa (gastriti/duodeniti). Dall'altra parte, l'infezione da HBP determina inizialmente uno stato di ipersecrezione di HCl, pepsina e muco mentre nei mesi successivi si instaura uno stato di ipocloridria che ne facilita la colonizzazione dello stomaco. Questa ipocloridria causa a sua volta un aumento dei livelli ematici di gastrina che riporta la secrezione cloridropetica a livelli normali: mucosa infiammata e non protetta in presenza dell'acido si degenera e determina l'ulcera gastrica o duodenale. È stata anche osservata, *in vitro*, una citotossina batterica vacuolizzante che agendo sulle cellule eucariotiche ne scatena una risposta di tipo infiammatorio: questa citotossina potrebbe concorrere con l'ammoniaca a determinare il danno cellulare.

### Risposta immunitaria all'*Helicobacter pylori*

L'infezione da HBP induce una risposta immunitaria sia sistemica che locale. *In vitro* essa attiva sia monociti e macrofagi che granulociti neutrofili, previa opsonizzazione con immunoglobuline di classe G il cui titolo è stato spesso riscontrato alterato in persone infette da HBP; anche anticorpi specifici anti-HBP e sistema complemento concorrono nel meccanismo di difesa. Alcuni Autori hanno dimostrato che, sempre *in vitro*, sia l'intera cellula batterica che i suoi prodotti solubili (LPS e proteine) sono in grado di stimolare una risposta immunitaria da parte dei monociti. Queste cellule quando vengono attivate esprimono sulla superficie della membrana plasmatica antigeni di istocompatibilità HLA-DR e recettori per l'interleuchina 2 oltre che produrre superossido, IL-1 e "tumor necrosis factor alpha" (TNF-alpha). È stata osservata l'esistenza di una proteina di peso molecolare di 61 kDa, sintetizzata insieme all'ureasi, che induce *in vitro* la chemiotassi dei leucociti umani; in effetti nella lamina propria della mucosa gastrica di soggetti con infezione da HBP si osserva spesso infiltrazione di granulociti neutrofili. *In vivo* l'infezione da HBP provoca l'espressione di HLA-DR sulle cellule gastriche. Alcuni Autori hanno constatato alte concentrazioni di TNF-alpha e IL-6 nel sovrastante di cellule gastriche provenienti da prelievi biotici, eseguiti in pazienti con gastrite cronica attiva associata ad HBP. Quest'ultimo, nella mucosa gastrica di individui infetti è spesso opsonizzato da IgA, presenti in alte concentrazioni sulla superficie delle cellule dello stomaco.

Anticorpi specifici anti-HBP sono quasi sempre associati ad una infezione da HBP; il titolo di questi anticorpi si abbassa dopo trattamento con antimicrobici in grado di eradicare l'infezione.

**Tabella 1. Metodiche disponibili per l'identificazione di HBP**

Test invasivi	Test non invasivi
Istologia	Urea Breath Test (UBT)
Test all'ureasi	Dosaggio Ab specifici (siero, saliva, urine)
Coltura	Dosaggio pepsinogeni sierici
Citologia	PCR (Placca dentaria, saliva, feci)

**Metodiche invasive**

Rientrano in questo gruppo tutte quelle metodiche che richiedono l'esecuzione dell'indagine endoscopica al fine di ottenere biopsie della mucosa gastrica. Poiché il batterio non ha una distribuzione uniforme, sono necessari prelievi multipli. Le metodiche più significative sono: 1) l'esame istologico, 2) l'esame colturale, 3) il test rapido all'ureasi.

*L'esame istologico*

La sensibilità e la specificità della metodica variano tra l'80% e il 98%. Non esistono colorazioni specifiche per l'HBP, attualmente la colorazione con Giemsa è la tecnica più usata per le sue caratteristiche di affidabilità (ottima visualizzazione del batterio). I vantaggi e gli svantaggi offerti da questa metodica sono illustrati nella tabella 2.

**Tabella 2. Esame istologico**

Vantaggi	Svantaggi
Ottima sensibilità e specificità	Invasivo
Gradazione della flogosi	Diagnosi ritardata (10 gg)
Gradazione della carica batterica	Necessità di anatomo-patologo esperto
Possibilità di analisi retrospettiva	Costo
Evidenziazione di lesioni contaminanti (displasia, maltoma)	

*L'esame colturale*

Le metodiche microbiologiche sono rivolte ad individuare caratteristiche morfologiche e biochimiche, quindi l'identificazione dell'infezione da HBP è più precisa con l'esame colturale con una specificità del 100%; mentre con quello istologico le percentuali di isolamento del batterio (mediante coltura di prelievi biotici) variano dal 75% al 90%. Alcuni fattori che possono interferire con la coltura del batterio sono: la recente assunzione di antibiotici, l'ingestione di anestetici locali o di simeticone durante l'esame endoscopico, la contaminazione delle pinze biotiche con altri organismi o con glutaraldeide. La coltura dovrebbe essere eseguita su tutte le gastroscopie, perché è l'unico esame che ha il 100% di specificità, inoltre permette lo studio della sensibilità agli antibiotici con la possibilità di effettuare una terapia mirata.

**Tabella 3. Esame colturale**

Vantaggi	Svantaggi
Consente la tipizzazione dell'HBP 100% specificità Studio delle resistenze Possibilità di terapia mirata	Invasivo Tempi lunghi (10-15 gg)

*Test rapido all'ureasi*

Si tratta di un test di semplice esecuzione che aumenta di poco il tempo ed il costo dell'esame endoscopico. La sensibilità dei vari test all'ureasi è simile a quella dell'esame istologico (75-98%) e la specificità è prossima al 100%, essi si basano sulla proprietà del batterio di produrre quantità rilevanti di ureasi: l'enzima prodotto dai batteri presenti nel frammento biotico scinde l'urea contenuta nel test in ammonio e bicarbonati con conseguente aumento del pH, che viene evidenziato da un indicatore colorimetrico (rosso fenolo). I test commerciali più usati sono il CLO-test (che utilizza pozzetti agar-gel) ed il CP-test (in fase liquida) che consentono una ricerca rapida e semplice del batterio. La lettura va eseguita entro 5-20 minuti (tabella 4).

**Tabella 4. Test rapido all'ureasi**

Vantaggi	Svantaggi
Semplicità di esecuzione Rapidità di risposta Poco costoso	Invasivo Sensibilità e bassa specificità

## Metodiche non invasive

I test non invasivi consentono l'accertamento dell'infezione da HBP senza ricorrere all'esame endoscopico, i principali sono: la sierologia ed il Breath Test.

### Sierologia

La colonizzazione batterica induce, oltre ad una risposta immunitaria locale, anche una risposta sistemica e nel siero dei soggetti infetti possono essere evidenziati anticorpi di classe IgA e IgG specifici per l'antigene del batterio. La metodica più largamente impiegata è quella in ELISA e la sensibilità e la specificità dei test ELISA attualmente in commercio si attesta intorno al 95% (Tabella 5). Dopo l'eradicazione del batterio, il livello anticorpale si riduce nel tempo, ma è comunque rilevabile per anni, è perciò fondamentale disporre di un prelievo ematico relativo alla prima osservazione, come punto di riferimento su cui basare i successivi controlli. In genere sono necessari alcuni mesi (mediamente 5-6) per osservare una significativa riduzione del livello di anticorpi.

Tabella 5. Sierologia

Vantaggi	Svantaggi
Elevata sensibilità	Possibilità di risultati dubbi
Semplicità di esecuzione	Poco idonea al controllo dell'effetto del trattamento eradicante
Idonea per studi epidemiologici e screening	Bassa specificità
Costo contenuto	

### Breath Test

È un test basato sulla ricerca dell'attività ureasica descritto nel 1987 dal Graham. Si somministra per via orale urea marcata con  $^{13}\text{C}$  oppure  $^{14}\text{C}$ . Nei soggetti con infezione in atto l'HBP idrolizza l'urea in ammoniaca ed anidride carbonica; quest'ultima è eliminata nel respiro come  $^{13}\text{CO}_2$  o  $^{14}\text{CO}_2$ . La  $\text{CO}_2$  marcata escreta viene raccolta ed analizzata: con spettrometro di massa per rapporto isotopico ( $^{13}\text{C}$ ) o con scintillografo ad emissione di raggi  $\beta$  ( $^{14}\text{C}$ ). Se l'HBP non è presente, l'urea somministrata passa in circolo attraverso la parete gastrica e viene poi eliminata nelle urine.

Il tasso d'escrezione della  $\text{CO}_2$  marcata può variare in relazione a diversi fattori che dipendono dal carico alimentare, dalla produzione individuale di  $\text{CO}_2$  e di urea, dall'attività ureasica e dal pattern di coloniz-

zazione gastrica batterica. Il carico alimentare viene somministrato prima dell'assunzione di urea marcata allo scopo di rallentare lo svuotamento gastrico e di permettere, quindi, un'adeguata distribuzione ed eventuale idrolisi dell'urea sulla mucosa gastrica. I campioni di aria espirata, prima e dopo l'ingestione di urea marcata, vengono poi analizzati da uno spettrometro di massa.

La sensibilità e la specificità dell'Urea Breath Test sono molto elevate (90-100%). La specificità del test consiste nel fatto che le cellule dei mammiferi non posseggono attività ureasica ed altri batteri ureasi-produttori (*Proteus* spp), colonizzano lo stomaco solo in particolari condizioni (atrofia gastrica, uso prolungato degli inibitori della pompa protonica). La buona sensibilità è dovuta all'elevata attività ureasica del batterio ed all'accuratezza delle tecniche di misurazione della  $\text{CO}_2$  marcata. Il test è utilizzabile per gli studi epidemiologici e di screening, nonché molto utile nel follow-up dei pazienti sottoposti a trattamenti eradicanti perché si negativizza con la scomparsa del batterio (tabella 6).

Tabella 6. Urea Breath Test

Vantaggi	Svantaggi
Elevata specificità e sensibilità	Costo elevato
Indicato per studi epidemiologici e di screening	Necessità di spettrometro di massa
Idoneo per il follow-up dei pazienti trattati per la diagnosi di reinfezione	
Non invasivo	

### Terapia

L'eradicazione dell'HBP è definita dall'assenza del microrganismo dallo stomaco da almeno un mese dopo la sospensione del trattamento antimicrobico. La riduzione della carica batterica non accompagnata da una reale eradicazione dello stesso viene definita con il termine di *effetto clearance*. Nel settembre 1996 si è svolto a Maastricht un Meeting dell'European Helicobacter Pylori Study Group secondo il quale l'eradicazione dell'HBP è fortemente consigliata in *tutti* i pazienti infetti con l'ulcera peptica. Nonostante l'HBP sia sensibile a numerosi farmaci *in vitro*, l'uso di una monoterapia è di solito inefficace per l'eradicazione del batterio *in vivo*: lo stomaco rappresenta infatti un ambiente ostile all'azione della maggior parte degli antibiotici, perché questi difficilmente raggiungono concentrazioni sufficienti per contrastare i batteri spiraliformi profondamente annidati nelle faveole gastriche e protetti dal muco, le singole terapie con amoxicillina e bi-

smuto hanno raggiunto tassi di eradicazione molto bassi (20-30%) e l'utilizzo di claritromicina, anche ad alti dosaggi (2 gr. per 2 settimane), è efficace solo nel 44% dei pazienti trattati.

Gli ultimi studi compiuti raccomandano protocolli terapeutici più efficaci anche se gli antibiotici sono somministrati per soli 7 giorni. Solo nel caso del fallimento della triplice terapia, viene oggi consigliata la cosiddetta terapia quadruplica, basata sull'impiego della triplice classica associata ad un inibitore della pompa protonica (PPI).

**Tabella 7. Schemi eradicanti per il trattamento dell'infezione da HBP**

Protocolli di 1 <sup>a</sup> scelta	Protocolli di 2 <sup>a</sup> scelta
PPI 20 mg/die associato a: Metronidazolo 400 mg x 2/die Claritromicina 250 mg x 2/die oppure Amoxicillina 500 mg x 3/die Metronidazolo 400 mg x 2/die per almeno 7 giorni	PPI 20 mg/die associato a Bismuto 120 mg x 4/die Metronidazolo 400 mg x 3/die Tetraciclina 500 mg x 4/die

**Bibliografia**

Belloni M. *Helicobacter pylori* e rischio neoplastico nel moncone gastrico. 1997.  
 Gasbarrini A, Gasbarrini G. *Helicobacter pylori*. Verduci Editore. 1997.  
 Calam J. *Helicobacter pylori*. C/C Edizioni Internazionali. 1996.  
 La Placa M. *Microbiologia Medica*. VI Edizione. Società Editrice Esculapio. 1996.  
 Graham, Malatay, Evans, Klein. *Epidemiology of HBP in*

*an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race and socioeconomic status. Gastroenterol* 100: 1495-1501, 1991.  
 Logan RPH. *Helicobacter pylori* verso il 2000. Ed. Cortina-Verona  
 Armstrong, Burton, Thompson. *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma. *Histopathol* 5: 389-90, 1991.  
 Asaka, Kimura, Kudo, Takeda, Mitani, Miyazaki, Miki, Graham. Relationship of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic Japanese population. *Gastroenterol* 102: 760-766, 1992.  
 Blaser. Hypothesis on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation.  
 Correa. Is gastric carcinoma an infectious disease?. *N Engl J Med* 325: 1170-1171, 1991.  
 Correa. The gastric precancerous process.  
 Kelly, Crampton Hunter. Eradication of *H. pylori*: effect on the antral mucus pH. *Gastroenterol* 100: A97, 1991.  
 Lancet. *Campylobacter pyloridis* becomes *Helicobacter pylori*. 2 (8670): 1019-20, 1989.  
 Mazzoleni. Il cancro primitivo del moncone gastrico. Minerva Medica 1980.  
 Northfield, Hall. Carcinoma of the gastric stump: risks & pathogenesis. *Gut* 1990.  
 Tonelli. La gastrite alcalina. *Il pensiero Scientifico* Ed.  
 Walker e coll.. Simple atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gut* 1991.  
 Sitas, Forman, Yarnell, Burr, Elwood et al.. *Helicobacter pylori* infection rates in relation to age and social class in a population of Welshmen. *Gut* 1991.  
 Hessey, Spencer, Wyatt, Sobala, Rathbone, Axon, Dixon. Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis. *Gut* 1997.  
 Chan, Hui, Leung, Thomas. Modes of *Helicobacter pylori* colonization and gastric epithelial damage. *Histopathol* 21: 521-528, 1992.