



Niveles de prohepcidina sérica y estado nutricional del hierro en niños con síntomas gástricos asociados a infección con *Helicobacter pylori*.

María Concepción Páez ¹ .

Anelsy Rivero ² .

Gloria Naddaf ³ .

Guillermo Bravomalo ⁴ .

Anna Inés Hevia ⁵ .

Anna M. Cioccia ⁶ .

Patricio Hevia ⁷ .

¹ Doctora en Nutrición. Prof. Titular Escuela de Bioanálisis. Investigadora y Directora Instituto de Investigaciones en Nutrición (INVESNUT-UC) Universidad de Carabobo

² Gastroenterólogo Pediatra Servicio de Gastroenterología Pediátrica de la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera de la Ciudad de Valencia, Estado Carabobo-Venezuela.

³ Lic. en Bioanálisis. Coordinadora del Área de Laboratorio. Instituto de Investigaciones en Nutrición. (INVESNUT-UC) Universidad de Carabobo.

⁴ Médico Cirujano. Escuela de Medicina, Universidad de Carabobo

⁵ Médico Cirujano. Escuela de Medicina José María Vargas, Universidad Central de Venezuela

⁶Magister en Nutrición. Prof. Titular Jubilada del Postgrado en Nutrición de la Universidad Simón Bolívar

⁷Ph.D. en Nutrición. Prof. Titular Jubilado del Postgrado en Nutrición de la Universidad Simón Bolívar phevía@usb.ve

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 01 de Julio del 2017 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

La literatura sugiere que la infección con *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), podría predisponer a una deficiencia de hierro y anemia ferropénica. Con el fin de profundizar en este tema y determinar si esta relación pudiera estar asociada a un aumento en los niveles de prohepcidina, condicionados por el estado inflamatorio producido por la infección con *H. pylori*, aquí se estudiaron 20 niños con síntomas de gastritis y biopsias indicativas de infección con *H. pylori* antes y 60 días después de erradicar la bacteria. La presencia de *H. pylori* y su erradicación con la terapia triple se confirmó usando la prueba del aire espirado. Los resultados mostraron que ninguno de los niños infectados presentó anemia pero durante la infección, entre un 75 y 90% presentaban una severa deficiencia de hierro determinada por sus niveles de ferritina, de receptores solubles de transferrina o por un algoritmo que relaciona estos dos factores con el estado inflamatorio medido a través de la proteína C reactiva y los niveles de leucocitos. Asimismo, se observó que en estos niños, los niveles de prohepcidina fueron 3 veces mayores que en niños normales. Una observación importante fue que 60 días después de la erradicación de *H. pylori*, los niveles de prohepcidina no disminuyeron y en consecuencia el estado de hierro tampoco mejoró. En general este estudio confirmó que la infección con *H. pylori* predispone a una deficiencia de hierro asociada con altos niveles de prohepcidina y que ninguno de estos factores disminuyó al erradicar la bacteria.

PALABRAS CLAVE: Niños, infección, *H. pylori*, erradicación, estado del hierro, prohepcidina

SERUM PROHEPCIDINE AND IRON STATUS IN CHILDREN WITH GASTRIC SYMPTOMS OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION

SUMMARY

The literature suggests that *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection predisposes to iron deficiency and anemia. In order to delve into this issue and determine if a high serum prohepcidine concentration, resulting from the inflammatory state caused by *H. pylori* infection, could be involved in this issue, 20 children with gastritis symptoms and biopsy signs of *H. pylori* infection were study before and 60 days after eradication of the bacteria using the triple therapy. *H. pylori* infection and eradication were stablished using the urea breath test. The results showed that none of the children had anemia but 75-90% had a severe iron deficiency measured by serum ferritin level, serum soluble transferrin receptors as well as by an algorithm that combines the previous methods with the inflammatory state determined by leucocyte count and C reactive protein levels. In addition, in these children serum

prohepcidine levels were 3 times higher than normal. An interesting observation was that *H. pylori* eradication did not reduced prohepcidine nor iron deficiency. In general, this study confirmed the association between *H. pylori* infection, iron deficiency and hyperprohepcidinemia and it also showed that *H. pylori* eradication had no effect on none of these factors.

KEY WORDS: Children, infection, *H. pylori*, eradication, iron status, prohepcidine

NIVELES DE PROHEPCIDINA SÉRICA Y ESTADO NUTRICIONAL DEL HIERRO EN NIÑOS CON SÍNTOMAS GÁSTRICOS ASOCIADOS A INFECCIÓN CON *HELICOBACTER PYLORI*.

INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) fue aislado del epitelio gástrico de pacientes con gastritis crónica por Warren y Marshall al inicio de los años 80 ⁽¹⁾ y estos investigadores australianos, ganaron el premio Nobel de Medicina en el 2005 por el descubrimiento de esta bacteria y su papel en la etiología en la gastritis y la úlcera péptica ^(2,3). Este descubrimiento cambió el paradigma en relación al tratamiento de estas patologías, que de ser consideradas como problemas psicosomáticos pasaron a ser consideradas enfermedades infecciosas ⁽³⁾.

Aunque inicialmente el énfasis en relación con las patologías asociadas con la infección por *H. pylori* se enfocó en las gastritis y la úlcera péptica, pronto se descubrió que también está asociado con otros problemas del aparato gastrointestinal superior como son la úlcera duodenal y dos tipos de cáncer gástrico, el linfoma MALT (linfoma asociado al tejido linfoide) y el adenocarcinoma gástrico. Sin embargo, la prevalencia de estas patologías entre los individuos infectados es muy baja ⁽⁴⁾, no obstante, al *H. pylori* se lo considera un Carcinógeno Tipo I y es la única bacteria considerada como un carcinógeno ⁽⁴⁾.

Se ha estimado que aproximadamente la mitad de la población mundial está infectada ⁽⁵⁾ y estos niveles son aún más altos en los países en desarrollo ⁽⁶⁾ donde se estima que alcanza a un 70% ⁽⁷⁾. Esto lo justifican las peores condiciones sanitarias prevalentes en los países en desarrollo, ya que las vías de transmisión del *H. pylori* ocurren de persona a persona por la vía oral o fecal y las malas condiciones sanitarias (disponibilidad de agua potable para aseo personal y de los alimentos, así como las limitaciones en la disposición adecuada de las aguas negras) favorecen la transmisión y aumentan la prevalencia de infección. En estas condiciones los individuos contraen la infección en la infancia (5 a 10 años) y pueden mantenerla de por vida a menos que se la trate adecuadamente ⁽⁷⁾.

La discusión anterior señala que de la población de individuos infectados con *H. pylori* a nivel mundial, en la gran mayoría, la infección cursa sin síntomas gastrointestinales. Sin embargo, se ha propuesto que el *H. pylori* podría en personas infectadas, favorecer el desarrollo de una serie de patologías extragástricas ⁽⁸⁾ entre ellas: enfermedades hematológicas como la deficiencia de hierro ^(8, 9,10) y la Púrpura trombocitopénica inmune ⁽¹⁰⁾, enfermedades cardiovasculares y el asma ⁽¹⁰⁾, accidentes cerebro vasculares isquémicos, la enfermedad de

Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y migrañas ⁽¹⁰⁾. Además, el *H. pylori* se ha asociado con enfermedades dermatológicas como la urticaria crónica idiopática ^(8,10) y otras patologías como el síndrome metabólico, la resistencia a la insulina, la rosácea y la fibromialgia ⁽¹⁰⁾. También se ha observado que el *H. pylori* puede colonizar la placa dentobacteriana contribuyendo con patologías de la cavidad oral y sirviendo como un reservorio de la bacteria en pacientes con gastritis ⁽¹¹⁾.

Un aspecto novedoso que relaciona al *H. pylori* con patologías extragástricas es su efecto potencial sobre la naturaleza de la microflora gástrica ⁽¹²⁾ o intestinal ⁽¹³⁾. Esto se refiere al efecto que podría tener la colonización o erradicación del *H. pylori* en la diversidad y composición de la comunidad de bacterias (microbioma o microbiota) presentes en el estómago y/o intestino a través del eje de señalización conocido como eje: microbioma-sistema gastrointestinal-cerebro ⁽¹³⁾ e incluye las toxinas o compuestos benéficos producidos por la microbiota, pero también su relación bidireccional con el sistema inmune y neuroendocrino del hospedador ^(13,14). Esto se ha asociado con problemas del intestino inferior como es el colon irritable ⁽¹³⁾ y posiblemente con la obesidad y sus enfermedades crónicas asociadas como son el síndrome metabólico, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares ^(13,14).

Así como la relación entre el microbioma intestinal y la salud del hospedador se ha ido aclarando con el tiempo ^(15,16), de la relación entre el microbioma gástrico y la salud se sabe menos. La microbiota gástrica en individuos *H. pylori* negativos es diversa ⁽¹²⁾, pero la colonización con *H. pylori* reduce esta diversidad y el *H. pylori* predomina alcanzando a más del 90% de la microbiota presente y una vez erradicado con antibióticos no muestra la resiliencia característica de la microbiota intestinal ⁽¹⁶⁾. La bacteria parece estar especialmente adaptada para colonizar este nicho ⁽¹⁶⁾ y está de acuerdo con que una fracción muy importante de la población del mundo está infectada sin síntomas gastrointestinales ^(7, 9, 14, 16), persiste por décadas y se considera parte de la flora nativa de la mucosa gástrica de los mamíferos, que ha colonizado la mucosa gástrica del ser humanos desde hace miles de años ^(4,14). Para lograr este equilibrio la bacteria exhibe características antigénicas que le permiten evadir una respuesta inmune, innata y adquirida, agresiva del hospedador ^(13,14), con lo que puede persistir en la mucosa gástrica por años, a pesar del ambiente excesivamente ácido (pH 2) del estómago. La existencia de este ajuste *H. pylori*-hospedador lo demuestran niveles antigénicos séricos que se mantienen constantes durante décadas ⁽¹⁴⁾ y la alta prevalencia de infección en una población que se mantiene asintomática ^(4, 9, 13, 14).

Esta simbiosis, de acuerdo a los expertos es conveniente para ambos, ya que por una parte la bacteria utilizando el nicho y la nutrición adecuada provistos por el hospedador logra persistir y a su vez el hospedador también se beneficia ya que el *H. pylori* establecido, limita la colonización por otras bacterias ^(9,14) potencialmente patógenas como son las que producen diarreas o cepas más agresivas del propio *H. pylori* ⁽⁹⁾ y al mantener un sistema inmune tolerante podría prevenir enfermedades alérgicas como asma y otras enfermedades

autoinmunes (4,8,14,16).

Por estas razones, se ha sugerido que la reducción en la prevalencia de infección con *H. pylori* que ha ocurrido en respuesta al aumento en las condiciones socio económicas y al uso de antibióticos, que ha caracterizado la fracción final del siglo 20 y comienzos del 21, pudiera estar relacionada con el incremento en algunas enfermedades que han aumentado en el mismo período como son: el reflujo gastroesofágico, el esófago de Barret, el asma, la diabetes, la obesidad y varios tipos de cáncer (4,14,16,17), por lo que la erradicación indiscriminada del *H. pylori* en pacientes asintomáticos pudiera no ser conveniente (4,14,16,17). La microbiota gástrica de los individuos infectados está formada por una diversidad enorme de cepas de *H. pylori* que forman colonias muy numerosas (10^8 - 10^{10} organismos/estómago) que contribuyen a la fisiología normal del estómago, mientras se mantiene un equilibrio adecuado entre los eventos inmunes que persiguen la erradicación de la bacteria junto con la presencia de eventos de virulencia bacteriana (4,9, 14, 16,17).

Es importante señalar que la evidencia que relaciona al *H. pylori* con enfermedades extragástricas es mucho más débil que las que lo relacionan con las enfermedades del aparato gastrointestinal superior (18). No obstante, dentro de este cúmulo de patologías extragástricas, la deficiencia de hierro y la anemia muestran una fuerte relación con la infección con *H. pylori* (9,10). El primer estudio señalando un efecto negativo de la infección *H. pylori* sobre el estado nutricional del hierro se publicó en 1993 (19) y desde entonces, se han publicado múltiples trabajos que abarcan un número importante de sujetos adultos y niños, muchos de ellos incluidos en tres metaanálisis tal como describe en detalle Serrano y colaboradores (9) y que concluyen que la mayoría de los trabajos muestran que la infección con *H. pylori* resulta en una deficiencia de hierro y/o anemia ferropénica. Esta deficiencia se puede corregir administrando hierro, pero el tratamiento es más efectivo si la administración de hierro se realiza posterior a la erradicación de la bacteria (9). Estos autores también señalan que dentro de estos estudios, algunos no apoyan la idea de un efecto negativo de la infección con *H. pylori* sobre el estado nutricional del hierro y en consecuencia se requiere de más investigaciones para resolver este debate (9). Esto es importante, especialmente en países en desarrollo donde coinciden las más altas prevalencias de infección con las mayores deficiencias de hierro (6, 9, 20, 21).

Desde un punto de vista teórico hay una serie de factores que podrían justificar la relación entre *H. pylori* y su efecto negativo sobre el metabolismo del hierro (9) entre ellas se destacan: a) Altos requerimientos de hierro para la colonización y persistencia de *H. pylori*. b) Altos niveles de lactoferrina en los neutrófilos polimorfo nucleares que se infiltran en respuesta a la infección con *H. pylori* y que secuestran el hierro dietario, haciéndolo indisponible tanto para la bacteria como para el hospedador. c) Reducción en la producción de ácido en respuesta a la infección del cuerpo del estómago con *H. pylori* (14) que limita la conversión del hierro férrico a ferroso que es más soluble y, que es la forma en la que se absorbe el hierro no hemo de la dieta. d) Bajos niveles de ácido ascórbico en los pacientes *H. pylori* positivos (9) y que es uno de los componentes de la dieta que estimula la absorción del hierro (9,10) y e) Pérdidas de

hierro asociadas a úlceras gástricas sangrantes y cáncer gástrico ⁽¹⁰⁾.

Un aspecto muy importante que podría explicar la deficiencia de hierro observada en sujetos infectados con *H. pylori* es el efecto de esta infección sobre el eje hepcidina-ferroportina ⁽⁹⁾. La hepcidina es un péptido de 25 aminoácidos sintetizado principalmente en el hígado. Esta hormona, actúa sobre el único exportador de hierro celular, actualmente conocido, que es la ferroportina presente en la membrana celular. La unión de la hepcidina con la ferroportina causa la internalización y destrucción de la ferroportina dentro de la célula con lo cual se limita su capacidad para exportar hierro ^(9, 20, 21, 22). La ferroportina se expresa principalmente en los enterocitos del duodeno y macrófagos. En consecuencia cuando los niveles de hepcidina se elevan, tanto la absorción del hierro dietario como el reciclaje del hierro presente en los eritrocitos senescentes por los macrófagos, se reduce, por lo que se puede producir deficiencia de hierro y/o anemia ^(9, 20, 21, 22). En contraste, una reducción persistente de la hepcidina produce acumulación de hierro y hemocromatosis ^(21,22).

Trabajos anteriores ^(21,22) muestran que las principales causas de una elevada hepcidina son 1) Aumento en el hierro sistémico que tiene por objeto mantener la homeostasis del hierro y 2) La presencia de condiciones tales como infección, inflamación y trauma, cuyo principal objetivo es secuestrar el hierro al interior de los tejidos, evitando que pueda ser utilizado por bacterias invasoras para su crecimiento y propagación ^(21,22). El presente trabajo tuvo como objetivo determinar si en pacientes infectados y con gastritis asociada a la infección con *H. pylori*, los niveles de prohepcidina (un precursor de la hepcidina de 60 aminoácidos) pudieran estar relacionados con el estado nutricional del hierro en los mismos individuos. Es importante señalar que la prohepcidina no tiene actividad hormonal, pero se sintetiza y circula a concentraciones similares a la hepcidina ⁽²²⁾ y su concentración sérica aumenta con el estado del hierro y los niveles inflamatorios tal como ocurre con la hepcidina activa. Actualmente no se sabe cuál es la función de la prohepcidina pero pudiera servir como un precursor de acceso rápido cuando se requiere hepcidina ⁽²²⁾.

En relación con el objetivo de este trabajo, hay que indicar que existe literatura ⁽⁹⁾ que señala que ni los niveles séricos de hepcidina, ni de prohepcidina están asociados con la anemia o la deficiencia de hierro observada en pacientes infectados con *H. pylori* ⁽⁹⁾, mientras que otros autores han reportado lo contrario ^(20, 21, 22) y en general la hipoferremia y anemia asociadas con las diarreas ulcerativas y la enfermedad de Crohn que afectan al aparato gastrointestinal inferior si se han asociado con hiperhepcidinemias ⁽²³⁾. Con respecto a esta discrepancia, los autores del presente trabajo, en una publicación anterior ⁽²¹⁾ reportaron que en niños sanos no infectados con *H. pylori* los niveles séricos de prohepcidina correlacionaron positivamente con la concentración sérica de ferritina, señalando que en estos niños la prohepcidina aumenta al aumentar la reserva de hierro (función homeostática). En contraste, en niños infectados con *H. pylori* pero asintomáticos, los niveles de prohepcidina no correlacionaron con las reservas de hierro pero correlacionaron positivamente con los niveles de inflamación y con la severidad de la infección con *H. pylori*, indicando que en estos niños prevaleció la función antibacterial de la hepcidina sobre la función homeostática y en consecuencia, apoya

la idea de que la deficiencia de hierro y la anemia observada con frecuencia en pacientes infectados con *H. pylori* pudiera deberse a una hiperhepcidinemia.

Con el fin de profundizar en la relación entre los niveles de prohepcidina y la deficiencia de hierro asociada con la infección con *H. pylori*, en el presente trabajo se estudiaron niños infectados con *H. pylori* pero que a diferencia del estudio anterior ⁽²¹⁾, tenían además síntomas de la infección como dolor abdominal, gastritis, náusea y vómitos y otras molestias abdominales típicas de esta infección ⁽²⁴⁾. Como esta condición, es señal de un estado proinflamatorio mayor a la que muestran los pacientes sin síntomas, se planteó como hipótesis que en estos niños el efecto inflamatorio del *H. pylori* sobre los niveles de prohepcidina, también deberían ser más severos y en consecuencia mostrarían niveles mayores de prohepcidina y de deficiencia de hierro. Además, como la literatura es ambigua en relación con los efectos de la erradicación del *H. pylori* sobre el estado nutricional del hierro ⁽²⁴⁾, en este trabajo se estudió la relación entre los niveles séricos de prohepcidina y el estado nutricional del hierro antes y después de la erradicación de la bacteria.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó siguiendo los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos según la declaración de Helsinki.

Para estudiar el efecto de la infección con *H. pylori* y su relación con niveles de prohepcidina, y estado del hierro en niños con síntomas de esta infección, antes y después de erradicar la bacteria, se estudiaron niños que acudieron al servicio de Gastroenterología Pediátrica de la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera de la Ciudad de Valencia, Estado Carabobo-Venezuela, debido a anorexia y a molestias gastroenterológicas severas y recurrentes. Después de un examen clínico, se estableció que 78 de estos niños, eran potencialmente *H. pylori* positivo por lo que se citaron para una endoscopia. El día de la endoscopia los niños se presentaron en ayunas y con el consentimiento escrito e informado de sus representantes, se procedió a tomar una muestra de sangre y además se aplicó la técnica del aire espirado para la detección del *H. pylori*. Los resultados de la biopsia obtenida durante la endoscopia señalaron que de los 78 niños estudiados, sólo 33 mostraron signos de gastritis crónica activa, severa o moderada asociada con la presencia de *H. pylori*. A todos ellos se les indicó tratamiento triple para erradicar la bacteria *H. pylori*, (Esomeprazol, 15mg cada 12hr durante 15 días; Amoxicilina, 30 mg/Kg cada 12 horas durante 10 días y Claritromicina, 7,5mg/Kg cada 12 horas durante diez días.) A estos niños se les citó 60 días después de finalizado el tratamiento para una segunda prueba de aire espirado y una nueva toma de muestra de sangre. De estos niños, se seleccionaron 20 que cumplieron con todas las etapas del estudio y en los que el tratamiento fue exitoso en erradicar la bacteria.

Detección de *H. pylori*: Para establecer la infección con *H. pylori* se utilizó el método del aire espirado. Esta metodología consiste en tomar muestras del aire espirado antes y después de la administración de una dosis oral de urea marcada con C¹³. En los niños infectados la ureasa

de la bacteria desdobra la urea en $C^{13}O_2$ y amoníaco, con lo que aumenta la concentración de $C^{13}O_2$ en el aire espirado. Esto se mide en un espectrómetro de masa y si la diferencia entre el valor medido después de la dosis de urea marcada, es 3,5% mayor que el medido antes de la dosis, se considera *H. pylori* positivo ^(25,26). Esto se define como “% Delta Over Base” o % DOB. Mientras mayor es el % DOB, mayor es la carga bacteriana y en consecuencia la severidad de la infección con *H. pylori*.

Las muestras de aire espirado fueron enviadas por vía aérea al Laboratorio de Isótopos Estables de la Universidad de Buenos Aires, Argentina para su procesamiento.

Evaluación del estado del hierro:

Hemoglobina, hematocrito y leucocitos se determinaron en un Contador Hematológico Midray BC-2600 tal como se describió anteriormente ⁽²¹⁾.

La Ferritina sérica se determinó mediante el método de enzimoimmunoanálisis (ELISA), utilizando un lector de ELISA marca Labsystems. Valores menores a 15 µg/L se consideraron deficientes.

Los Receptores Solubles de Transferrina (RsTf) en suero se determinaron usando un método inmunoenzimático con un Kit de la casa R&D. Se utilizó un lector de ELISA marca Labsystems. Debido a la escasa información respecto a los límites de normalidad para los RsTf, en este estudio se tomó como valor de referencia el recomendado por el fabricante. Se definió como eritropoyesis deficiente de hierro, a valores superiores a 2,3 mg/L (27 nmol/L).

Para el diagnóstico de deficiencia de hierro se utilizó el algoritmo ⁽²⁷⁾ que incluye las concentraciones de Ferritina, de Proteína C Reactiva (PCR), los RsTf y el conteo de leucocitos tal como se describió previamente ⁽²¹⁾.

Los niveles séricos de prohepcidina se determinaron en suero mediante la técnica de Inmunoensayo enzimático (ELISA), utilizando un Kit de la casa DRG (Kit Hepsidin Prohormone EIA-4644), la absorbancia obtenida se midió en un lector de ELISA. En este ensayo se consideraron valores medios y mediana normal a concentraciones de 104,5 y 92,2 ng/ml, respectivamente.

Los niveles séricos de Proteína C Reactiva (PCR) se determinaron en suero mediante un ensayo nefelométrico utilizando el Kit MININEPH PCR de la casa Binding Site (Código ZK044.L.R) y un analizador MININEPH de la misma casa comercial. Se consideraron niveles moderadamente elevados valores de PCR entre 1-10 mg/L, incrementos que se asocian a la inflamación crónica ⁽²⁸⁾.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 17.0. Previo al análisis de los datos se realizaron las pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilk. Debido a que las variables no mostraron una distribución normal, el análisis estadístico se realizó utilizando pruebas No Paramétricas.

Para evaluar la presencia de asociación entre la infección por *H. pylori* y la anemia o

deficiencia de hierro se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para comparar grupos se utilizó la prueba de Wilcoxon que se usa para la comparación de muestras pareadas. El nivel de significancia se fijó en 5% para todas las pruebas estadísticas.

RESULTADOS

Los 20 niños estudiados tenían edades que variaron entre 5 y 13 años con una edad promedio de $7,8 \pm 3,4$ años y de los cuales 9 eran del sexo femenino y 11 del sexo masculino.

Los resultados de las biopsias obtenidas durante el estudio endoscópico indicaron que todos eran *H. pylori* positivos, la mayoría de colonización antral con infiltrado inflamatorio, presencia de linfocitos y neutrófilos, con signos de duodenitis y/o gastritis moderada o severa.

La Figura 1 muestra que en los niños estudiados, el valor de la mediana de % DOB (% Delta Over Base) obtenido de la prueba de aire espirado antes del tratamiento fue de 30.11%. Estos valores variaron entre 5 y 177% indicando que todos los niños eran *H. pylori* positivos. Asimismo, la figura muestra que después de la triple terapia, el % DOB disminuyó a 0,48% y todos los niños tratados tuvieron valores menores a 3,5% que es el punto de corte para esta prueba.

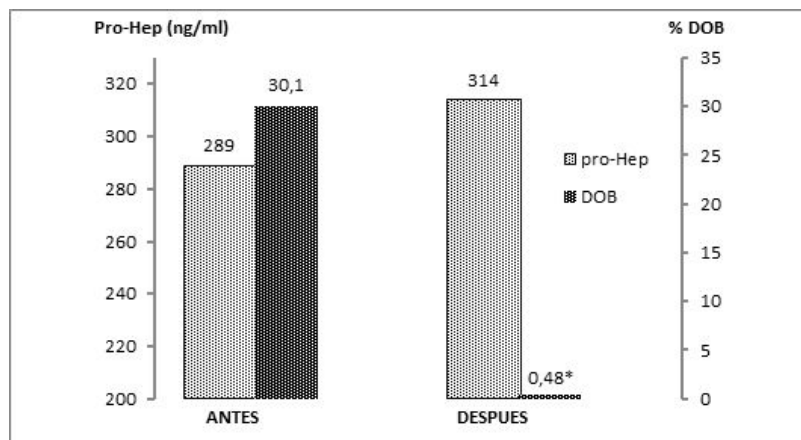


Figura 1. Niveles séricos de prohepcidina y % DOB¹ en 20 niños con síntomas de gastritis asignable a infección con *H. pylori* antes y después de erradicar la bacteria con la terapia triple². Las barras muestran las medianas. * Medianas significativamente diferentes al 5%. 1. % DOB mayor a 3,5% indican infección por *H. pylori* de acuerdo a la prueba del aire espirado. 2. Esomeprazol, Amoxicilina y Claritromicina. Los valores identificados como antes corresponden a los resultados obtenidos ANTES de la erradicación de la bacteria y los identificados como DESPUES son resultados obtenidos 60 días después de la erradicación del *H. pylori*.

La Figura 1 también muestra que en los niños estudiados los valores séricos de prohepcidina estaban elevados con respecto a los valores considerados normales (92.2 ng/ml) y que no hubo diferencias significativas entre los valores obtenidos antes y después de 60 días de la erradicación del *H. pylori*.

La Tabla 1 muestra que en los niños estudiados ni las medianas de hemoglobina o del hematocrito determinados en sangre completa estuvieron por debajo de los límites establecidos para diagnosticar anemia. Sin embargo, la Tabla 1 también muestra que la ferritina que es un indicador de los depósitos de hierro estuvo muy por debajo de lo normal, tanto antes como después de la erradicación de la bacteria.

Tabla 1. Indicadores del estado del hierro, Proteína C Reactiva (PCR) y conteo de leucocitos en 20 niños con síntomas de gastritis asignable a infección con *H. pylori* antes y después de erradicar la bacteria con la terapia triple.

Variable	Antes ¹	Después ¹
	Mediana (p25-p75)	Mediana (p25-p75)
Hemoglobina (g/dl)	12,9 (12,5 - 13,6)	13,1 (12,3 -13,4)
Hematocrito (%)	41 (38,5-42,5)	39,5(37,5-41,0)
Ferritina (µg/L)	8,7 (5,0 - 13,2)	6,8 (4,6 - 12,6)
RsTf (mg/L)	3,2 (2,4 - 4,2)	3,8 (3,0 - 4,4)
RsTf/log Ferritina	4,0 (2,39- 4,9)	4,5 (3,5 - 4,42)
PCR (mg/L)	2,4 (2,0-3,3)	2,8 (1,9-3,3)
Leucocitos/mm ³	6,9 (5,95-9,2)	7,0 (6,125-10,175)
N	20	20

1. No hubo diferencias significativas entre las medianas determinadas antes o después de la erradicación de *H.pylori* al 5%. Puntos de corte: Hemoglobina y Hematocrito: 11,5 g/dl y 33% (5-11 años), 12,0 g/dl y 36% (12-14 años). Ferritina: $\geq 15\mu\text{g/L}$ ⁽²⁹⁾. RsTf: $< 2,3$ mg/L de acuerdo con el Kit utilizado ⁽²¹⁾. RsTf/log Ferritina: 1,96 calculado de RsTf normal (2,3mg/L) y Log ferritina normal (15µg/L). PCR: 1-10 mg/L define niveles moderados de inflamación ⁽²⁸⁾. Leucocitos: 5,5-12 mil/mm³ ⁽³⁰⁾.

La Tabla 1 también muestra que los receptores solubles de transferrina y la relación entre estos receptores y el logaritmo de la ferritina en los niños estudiados estuvieron por encima de lo normal antes y después de la erradicación de la bacteria. Esta combinación de indicadores del estado del hierro, señala que los niños estudiados presentaban una deficiencia de hierro

pero aún no tenían signos de una anemia ferropénica.

Asimismo, la Tabla 1 muestra que los niveles séricos de la proteína C reactiva (PCR) estaban moderadamente elevados en los niños infectados con *H. pylori* y que esta condición se mantuvo después de la erradicación de la bacteria. La Tabla 1 muestra además que el conteo de glóbulos blancos de los niños estudiados estuvo dentro de los límites normales tanto antes como después de la erradicación del *H. pylori*.

La Tabla 2 describe la prevalencia de anemia y deficiencia de hierro en el grupo de niños estudiados. La tabla muestra el número y el porcentaje de niños con y sin anemia, de acuerdo con sus valores de hemoglobina o hematocrito o de deficiencia de hierro medida por tres métodos diferentes. Se observa que ninguno de los niños mostró valores de hemoglobina o hematocrito por debajo de los rangos establecidos como normales, señalando que en este grupo, la infección por *H. pylori* no produjo anemia. En contraste, entre un 75-90% de los 20 niños mostraron valores de deficiencia de hierro durante la infección con *H. pylori* y también 60 días después de su erradicación, ya que con ninguno de los métodos utilizados para diagnosticar deficiencia de hierro se detectaron diferencias significativas entre los valores medidos antes y después de los 60 días de la erradicación, utilizando el método estadístico de Fisher. Así, generalizando estos hallazgos, se puede señalar que en este estudio, *H. pylori* no produjo anemia pero estuvo asociada con un estado severo de deficiencia de hierro que no se corrigió al erradicar la bacteria.

Tabla 2. Número y % de niños anémicos o deficientes en hierro dentro del grupo de los 20 niños estudiados, que presentaban síntomas de gastritis asignable a infección con *H. pylori* antes y después de 60 días de erradicar la bacteria con la terapia triple.

Estado de Hierro		Antes ¹	Después ¹
Anemia (Según Hemoglobina)			
No anémicos	N, (%)	20 (100%)	20(100%)
Anémico	N, (%)	0 (0%)	0(0%)
Anemia (Según Hematocrito)			
No anémicos	N, (%)	20 (100%)	20(100%)
Anémico	N, (%)	0 (0%)	0(0%)
Deficiencia de hierro según Ferritina			

No deficientes	N, (%)	5 (25%)	4(20%)
Deficientes	N, (%)	15(75%)	16(80%)
Deficiencia de hierro según RsTf >2,3			
No deficientes	N, (%)	5 (25%)	2(10%)
Deficientes	N, (%)	15 (75%)	18(90%)
Deficiencia de hierro según Algoritmo			
No deficientes	N, (%)	3 (15%)	2(10%)
Deficientes	N, (%)	17 (85%)	18(90%)

1. No se detectaron diferencias significativas entre los valores obtenidos antes y después de los 60 días de la erradicación de la bacteria, utilizando el método estadístico de Fisher al 5%.

La Figura 2 muestra los valores individuales de prohepcidina sérica medidos durante la infección con *H. pylori* y 60 días después de erradicarla utilizando la terapia triple. La Figura 2 muestra que la erradicación de la bacteria no produjo cambios importantes en los niveles séricos de prohepcidina. En algunos casos los niveles disminuyeron, en otros aumentaron y en la mayoría se mantuvieron iguales. Algo que vale la pena resaltar es que

en ninguno de los niños estudiados los valores de prohepcidina sérica fueron iguales o menores de los señalados como normales por el Kit utilizado para determinar prohepcidina (104,5 ng/ml).

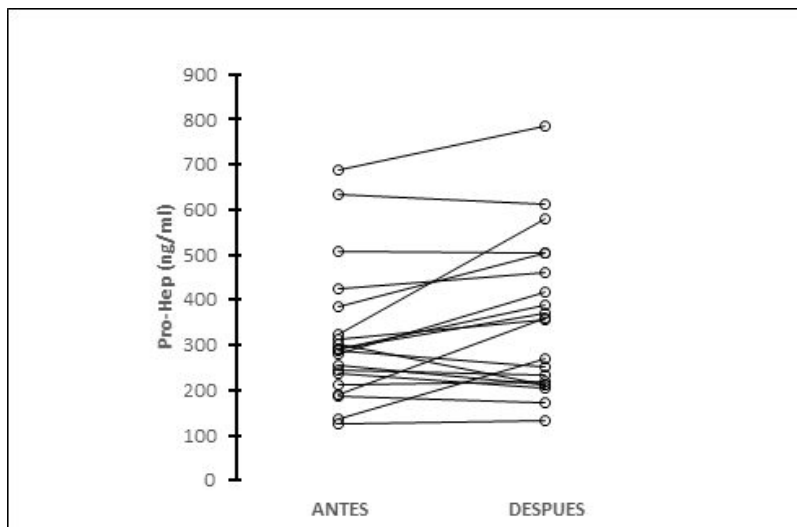


Figura 2. Niveles séricos de prohepcidina en cada uno de los 20 niños con síntomas de gastritis asignable a infección con *H. pylori* antes y después de erradicar la bacteria con la terapia triple. Las líneas representan el cambio en los valores séricos de prohepcidina como resultado de erradicar *H. pylori* utilizando la terapia triple. Los valores designados como ANTES representan los niveles de prohepcidina durante la infección y los designados como DESPUES representan los valores obtenidos 60 días después de la erradicación de la bacteria.

DISCUSIÓN

La relación causal entre la infección con *H. pylori* y la anemia y/o deficiencia de hierro que se ha sospechado desde los inicios de los años 90 del siglo 20, aún no está claramente establecida. Sin embargo, la opinión más generalizada es que la infección con *H. pylori* puede alterar la homeostasis del hierro y aumentar los riesgos a desarrollar una deficiencia de este metal. La idea más generalizada es que la infección con *H. pylori* produce una deficiencia de hierro que puede eventualmente conducir a una anemia ferropénica. Estas condiciones son más difíciles de eliminar espontáneamente o con el uso de suplementos de hierro a menos que se erradique la bacteria^(6-10,20,22,24). Sin embargo, debido a que existen trabajos que descartan esta relación, las revisiones recientes de la literatura señalan que este debate aún no está completamente resuelto y que en consecuencia debe seguir investigándose^(18,24). Esto es especialmente importante en países como Venezuela donde coincide una alta prevalencia de infección con deficiencias de hierro^(6,7).

Tal como ya se describió^(9,10) hay una variedad de factores que podrían relacionar a la infección con *H. pylori* con deficiencias de hierro. En el caso del presente trabajo y en seguimiento a un trabajo anterior⁽²¹⁾ aquí se enfocó en el efecto de la infección con *H. pylori* sobre los niveles de prohepcidina sérica. La inflamación produce citoquinas como IL-6, IL-22 y Activina B⁽³¹⁾ que actúan sobre las vías de señalización que activan al gen de la hepcidina, estimulando la producción de la hormona y su precursor, la prohepcidina⁽²²⁾. Debido a que la infección con *H. pylori* tiene un efecto pro inflamatorio, se estudió la relación entre los niveles séricos de prohepcidina con el estado nutricional del hierro en niños *H. pylori* positivos con síntomas. Se decidió utilizar estos niños debido a que en un estudio con niños asintomáticos⁽²¹⁾, se observó que los niveles de prohepcidina aumentaban significativamente con los niveles de inflamación establecidos en base a los niveles de PCR y a la severidad de la infección con *H. pylori* medida utilizando el método del aire espirado (% DOB). Sin embargo en niños asintomáticos, los niveles de inflamación son bajos debido a que se establece un equilibrio (simbiosis) entre la bacteria y el hospedador que minimiza la inflamación y esta está asociada a una respuesta regulada por linfocitos Th2⁽¹⁴⁾. En cambio, en el caso de una infección con síntomas, el nivel inflamatorio es mayor, ocurre con afectación de la mucosa gástrica y una respuesta inmune más agresiva, mediada por células Th1 que generan una mayor inflamación⁽¹⁴⁾. Como la prohepcidina y la hepcidina responden a la inflamación⁽²²⁾, se pensó que en estos niños los niveles de prohepcidina serían mayores y en consecuencia, sus efectos sobre el estado del hierro también serían más severos. De acuerdo con esta expectativa, los niveles séricos de prohepcidina obtenidos en este trabajo fueron unas 3 veces mayores que los señalados como normales, mientras que los obtenidos en el trabajo con niños asintomáticos los valores estuvieron muy cerca de la normalidad. Los valores de prohepcidina reportados aquí, para niños infectados con *H. pylori* y con síntomas de gastritis concuerdan con los reportados por Sato y colaboradores⁽³²⁾ en adultos con diferentes tipos de gastritis. Adicionalmente, este estudio muestra que los altos niveles de prohepcidina registrados aquí, afectaron negativamente el estado nutricional del hierro en los niños. Así,

aunque ninguno presentó signos de anemia, entre un 75 y 90% mostraron signos de deficiencia subclínica de hierro. Esto, se determinó por tres métodos diferentes que mostraron un notable nivel de acuerdo entre ellos. Esto lo reveló incluso un método en que la deficiencia de hierro se determina utilizando un algoritmo que corrige los efectos de la inflamación⁽²⁷⁾.

La deficiencia subclínica de hierro que presentaron los niños incluyó una baja reserva de hierro y un aumento en los receptores celulares de transferrina. Esta última adaptación probablemente logró aumentar la capacidad de captar hierro en todos los tejidos, incluyendo el tejido hematopoyético y así, evitó que se produjera anemia. Sin embargo, esta compensación, no se puede mantener indefinidamente por lo que eventualmente estos niños expresaran los signos y síntomas de una anemia ferropénica.

Debido a que la literatura señala ^(9,10,21,24) que la eliminación de *H. pylori* facilita la supresión de la deficiencia de hierro en los pacientes infectados, se estudió este aspecto del problema y se observó que después de la erradicación de la bacteria usando la terapia triple y después de 60 días de haberla confirmado utilizando la prueba del aire espirado, los niveles de prohepcidina no disminuyeron en relación con los valores medidos durante la infección. Asimismo y de acuerdo con la hipótesis planteada aquí, los indicadores de deficiencia de hierro tampoco cambiaron con la erradicación de la bacteria, ya que la prevalencia de deficiencia de hierro fue la misma antes y después de erradicarla. Esto sugiere que el cuadro inflamatorio asociado con *H. pylori* podría haberse mantenido después de la erradicación de la bacteria. Esto estuvo de acuerdo con los resultados de la proteína C reactiva que también estuvo elevada antes y después de erradicar el *H. pylori*.

En relación con lo anterior, Sato y colaboradores⁽³²⁾ encontraron que luego de 2 a 3 meses, después de erradicar *H. pylori* en 10 pacientes con gastritis nodular, los niveles de prohepcidina disminuyeron sólo en 6 y ninguno alcanzó los valores del grupo no infectado. Además en el trabajo de Sato y colaboradores⁽³²⁾ la erradicación de *H. pylori*, tampoco produjo cambios en el estado del hierro. Esto indica que la erradicación de *H. pylori*, no necesariamente reduce los niveles de prohepcidina y en consecuencia, tampoco afecta al estado del hierro, ya que para que esto ocurriera la hepcidina y su precursor la prohepcidina tendrían que volver a los valores basales o incluso disminuir aún más para que condicionaran una mayor absorción y transporte de hierro a los sitios de reserva y síntesis de hemoglobina.

Una posible explicación para este estado inflamatorio mantenido posterior a la erradicación exitosa de *H. pylori*, podría ser que la recuperación del epitelio gástrico tarde más de 60 días. Al respecto Genta y colaboradores⁽³³⁾ señalaron que la recuperación de la integridad de la mucosa gástrica y el regreso a la normalidad de los epitelios, así como la eosinofilia y la infiltración con linfocitos, puede prolongarse hasta un año o más posterior a la erradicación de esta bacteria.

Los resultados de este estudio, obtenidos en niños *H.pylori* positivos con gastritis y del estudio anterior en niños infectados pero sin síntomas⁽²¹⁾ están de acuerdo en que la infección compromete el estado nutricional del hierro y que la prohepcidina y probablemente la hepcidina están involucradas en este proceso. Sin embargo, no se puede desconocer que existe literatura que no apoya estos hallazgos^(9,18,20,22,24). A continuación se presentan

algunas razones que podrían explicar estas diferencias.

Hay una serie de condicionantes que pudieran explicar las diferencias entre los resultados reportados en relación con los efectos de la infección con *H. pylori*, el estado del hierro y la importancia de la erradicación para resolver la deficiencia de hierro que produce. Entre ellos se destacan: 1) Diferencias entre el consumo y la disponibilidad del hierro consumido. Así, la infección con *H. pylori* produce diferentes grados de anorexia^(14,24), esto indica que el consumo de alimento y en consecuencia de hierro, no es igual en todos los pacientes por lo que los niveles de deficiencia asociados con la infección pueden ser variables. Adicionalmente, la disponibilidad biológica del hierro dietario también varía. Por ejemplo en el trabajo de Sato y colaboradores⁽³²⁾ la deficiencia de hierro fue menor a la reportada en nuestro trabajo. Es posible que esto resulte de una mayor disponibilidad del hierro consumido en Japón que en Valencia-Venezuela. 2) Adicionalmente afecta la edad y el género de los pacientes ya que por una parte, los efectos inflamatorios del *H. pylori* son más agresivos en pacientes adultos^(14, 16,34) que en los niños y al mismo tiempo, la reserva de hierro aumenta con la edad en varones y en las mujeres después de la menopausia⁽³⁵⁾. Esto determina que los niños sean más propensos a desarrollar una deficiencia de hierro que los adultos. 3) También es importante el tipo de *H. pylori* colonizante. Así, los pacientes infectados con las cepas que expresan los genes *cagA* y *vacA*, presentan efectos gastrointestinales más severos con riesgo de hemorragias gástricas y mayor riesgo de deficiencia de hierro que los colonizados por cepas que no expresan estos genes^(9,14). 4) Igualmente influye el sitio del estómago que colonice la bacteria⁽¹⁴⁾. Así, la colonización en la zona antral estimula la producción de jugo gástrico, Factor Intrínseco y HCl, mientras que la colonización en el cuerpo del estómago, afecta a las glándulas parietales y produce atrofia gástrica y aclorhidria^(9,14). Esto es importante porque el pH ácido es esencial para mantener el hierro en forma soluble⁽³⁶⁾ y en consecuencia la aclorhidria limita la absorción del hierro. Adicionalmente, la falta de Factor Intrínseco, limita la absorción de la Vitamina B12 y una deficiencia de B12 produce una anemia perniciosa que no responde al hierro. 5) Los resultados también pueden variar si los pacientes estudiados son anémicos. La razón es que la anemia y anoxia inhiben al gen de la hepcidina por un mecanismo que involucra a la hematopoyetina^(20,22) y este efecto es más importante que el efecto estimulante de la inflamación sobre este gen. Así, si algunos de los pacientes estudiados son anémicos, la producción de hepcidina y prohepcidina será baja, mientras que en los no anémicos la producción de esta hormona y su prohormona aumentan con la inflamación, con lo que los resultados podrían ser confusos. Esta ha sido una ventaja en el presente estudio con niños infectado sintomáticos y el estudio anterior con niños asintomáticos⁽²¹⁾. En ambos casos, no hubo anemia y en consecuencia los niveles de prohepcidina y su efecto negativo sobre el estado del hierro aumentaron. En contraste, en un estudio reciente en ratones anémicos⁽²⁰⁾, los niveles de hepcidina disminuyeron.

En conclusión, este estudio muestra que en niños infectados con *H. pylori* y con síntomas de gastritis activa, la infección estuvo asociada con una severa deficiencia subclínica de hierro. Adicionalmente, la infección causó un aumento en los niveles de prohepcidina y la erradicación de la bacteria no resultó ni en una reducción de los niveles séricos de esta prohormona, ni en una mejora en el estado nutricional del hierro medidos 60 días después de

confirmada la erradicación utilizando la terapia triple. Un corolario de los resultados obtenidos en este estudio es que mientras los niveles de prohepcidina se mantengan elevados, la suplementación con hierro difícilmente podrá resolver una deficiencia subclínica de hierro. Sin embargo, en pacientes anémicos, la suplementación puede ser un recurso apropiado para suprimirla.

REFERENCIAS

1. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1g: 1273-1275.
2. Pajares García JM. Descubrimiento de la bacteria y su impacto en las enfermedades gastroduodenales: Premio Nobel 2005 merecido aunque retrasado. *An R Acad Nac Farm* 2006; 72: 139-164.
3. López Vidal Y, Ponce de León S. Reflexiones a propósito del Premio Nobel, el *Helicobacter pylori*, la úlcera péptica y los paradigmas científicos. *Rev Invest Clin* ene-feb 2006; 58 No. 1 México https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762006000100001 (visitado Marzo 2017).
4. Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology* 2009; 136:1863-1873.
5. Torres J, Pérez-Pérez G, Goodman KJ, Atherton JC, Gold BD, Harris PR, la Garza AM, Guarner J, Muñoz O. A comprehensive review of the natural history of *Helicobacter pylori* infection in children. *Arch Med Res* 2000; 31: 431-469.
6. Santos I, Boccio J, Davidsson L, Hernández-Triana M, Huanca- Sardinias E, Janjetic M, Moya-Camarena S, Paéz-Valery M, Valencia M, Valle N, Vargas-Pinto, Solano L, Thomas J. *Helicobacter pylori* is not associated with anemia in Latin America: Results from Argentina, Brazil, Bolivia, Cuba, México and Venezuela. *Public Health Nutrition* 2009; 12 (10): 1862- 70.
7. Gonzaga Coelho L. *Helicobacter pylori* in South America. Epidemiology, Diagnosis and treatment. En: *Helicobacter pylori: A Worldwide perspective* 2014. Gyorgy M. Buzás Editor. Bentham eBook. Bentham Science Publishers USA. 2014; (39): 130-168.
8. Marcano M, Uluknon K, Vásquez C, Vidal A. Manifestaciones extra-gástricas de la respuesta inmunitaria frente a la infección gástrica por *Helicobacter pylori*. *Vitae* Abril-Julio 2006; No. 27. vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=7&n=25306 (visitado Marzo 2017).
9. Serrano C, Villagrán A, Harris PR. *Helicobacter pylori*: una causa no tradicional de deficiencia de hierro y anemia. *Rev Chil Pediatr* 2012; 83 (1): 13-23.
10. Wong F, Raymer-Hartley E, Byrne M. Extraintestinal manifestations of *Helicobacter pylori*: A comprehensive review. *World Journal of Gastroenterology* 2014; 20 (34): 11950-11961.

11. Meza-Quintana A, Ortiz-Tobar M, Delgado-Perafán PD, Jaramillo-Henao CA, Cuerrero-Medrano L. Detección de *Helicobacter pylori* en la placa dentobacteriana y la importancia de la cavidad oral como posible reservorio en pacientes con gastritis. *Rev Colomb Investig Odontol* 2012; 3 (7). <https://www.rcio.org/index.php/rcio/article/view/81/186> (visitado Marzo 2017).
12. Khosravi Y, Dieye Y, Poh BH, Chow Goon NG, Loke MF, Lee Goh K, Vadivelu J. Culturable bacterial microbiota of the stomach of *Helicobacter pylori* positive and negative gastric disease patients. *The Scientific World Journal* 2014; Volume 2014, Article ID 6042, 10 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/610421> (Visitado Marzo 2017).
13. Budzynski J, Klopocka M. Brain-axis in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2014; 20 (18): 5212-5225.
14. Blaser MJ, Atherton JC. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; 113: 321-333.
15. Oleskin AV, El-Registan GI, Shenderov BA. Role of neuromediators in the functioning of the human microbiota: "Business talks" among microorganisms and the microbiota-host dialogue. *Mikrobiologiya* 2016; 85 (1): 3-25.
16. Cho I, Blaser M.J. The human microbioma at the interfase of health and disease. *Nature Review Genetics* 2012; 13: 260-270.
17. Blaser MJ. Science Medicine and the Future: *Helicobacter pylori* and gastric disease. *Brit Med J* 1998; 316: 1507-1510.
18. Figura N, Fiorilli G, Langone F, Vaglio L, Moretti E. Extradigestive manifestations of *Helicobacter pylori* infection: What is proven and unproven. En: *Helicobacter pylori: A Worldwide perspective* 2014. Gyorgy M. Buzás Editor. Bentham eBook. Bentham Science Publishers USA. 2014; (60): 336-395.
19. Dufour C, Brisigotti M, Fabretti G, Luxardo P, Mori PG, Barabino A. *Helicobacter pylori* gastric infection and sideropenic refractory anemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 17: 225-227.
20. Burns M, Muthupalani S, Zhongming G, Wang TC, Batthavatchalu V, Cunningham C, Ennis K, Georgief M, Fox JG. *Helicobacter pylori* infection induces anemia, depletes serum iron storage and alters local iron-related and adult brain gene expression in male INS-GAS mice. *PLOS ONE/DOI: 10.1371/journal.pone. 0142630*. Nov 17, 2015; 1-22.
21. Páez-Valery MC, Naddaf G, Barrado D, Cioccia AM, Hevia P. Prohepcidina estado de hierro e inflamación en escolares sanos o *Helicobacter pylori* positivo asintomáticos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 2017; 51 (2). En prensa.
22. Páez-Valery MC, Cioccia AM, Hevia P. Papel de la hepcidina y la ferroportina en la regulación hormonal de la homeostasis del hierro. *Vitae Julio-Septiembre* 2014; No. 59. http://vitae.ucv.ve/index_pdf.dddddphp?module=articulo_pdf&n=5008&rv=114

23. Verma S, Cherayil BJ. Iron and inflammation-The gut reaction. Critical Review. Metallomics. DOI 10.1039/c6mt00282j. Enero 2017.
24. Gheibi Sh, Farrokh-Eslamlou HR, Noroozi M, Pakniyat A. Refractori Iron deficiency anemia and Helicobacter pylori infection in pediatrics: A review. Iran J Ped Hematol Oncol 2015; 5 (1): 50-64.
25. Zubillaga M, Oliveri P, Panarello H, Buzurro M, Adami J, Goldman C et. al. Stable isotope techniques for the detection of Helicobacter pylori infection in clinical practice. ¹³C-Urea Breath Test in different experimental conditions. Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoamer 1999; 49(2):101-7.
26. Barrado A, Preston T, Slater C, Zubillaga M, Miranda-da-Cruz B, Mokhtar N et. al. Utilidad de los Isótopos Estables en Salud Humana y nutrición: Espectrometría de masas y test de aliento con ¹³C-urea aplicados a la detección de Infección por Helicobacter pylori. Arch Latinoamer Nutr 2004; 54(S2): 5-19.
27. Páez-Valery MC, Santos I, Naddaf G, Acosta E, Barón MA, Solano L, Boccio J. Helicobacter pylori and iron status in school children from Valencia, Venezuela. SALUS 2011-2012; 16(S): 13-23.
28. González LA, Molina JF. Evaluación de la inflamación en el laboratorio. Rev Colomb Reumatol 2010; 17 (1): 35-47.
29. WHO. Iron Deficiency Anemia Assessment, Prevention and Control. WHO/NHD/01.3. 2001.
30. Mello-Valls M, Murciano-Carrillo T. Regreso a las bases. Interpretación del hemograma. Pediatría Integral XVI 2012; (5): 413.e1-413.e6.
31. Kanamori Y, Sugiyama M, Hashimoto O, Murakami M, Matsui T, Funaba M. Regulation of hepcidine expression by inflammation-induced activin B. Scientific Reports 6: 38702. December 2016. DOI 10.1038/s rep 38702. www.nature.com/scientificreports.
32. Sato Y, Yoneyama O, Azumaya M, Takeuchi M, Sasaki S, Yokoyama J, Shioji K, Kawauchi S, Nishigaki Y, Kobayashi M, Sugimura K, Honna T, Narisawa R, Aoyagi Y. The relationship between iron deficiency in patients with Helicobacter-infected nodular gastritis and the serum prohepcidine level. Helicobacter 2014; 20: 11-18.
33. Genta RM, Lew GM, Graham DY. Changes in the gastric mucosa following eradication of Helicobacter pylori. Mod Pathol 1994; 6 (3): 281-289.
34. Harris PR, Smythies LE, Smith PD, Pérez-Pérez GI. Role of childhood infection in the sequelae of H. pylori disease. Gut Microbes 2013; 4(6): 13.
35. Ueno Y, Fujita K, Takashima N, Chiba S, Uzuka Y, Kimuchi T, Shimizu N. Serum ferritin increases with age in men but not in women. In women remains low until 40 and then increases abruptly. Rinsho Byodi 1991; 39(5): 523-530.
36. Jacob A, Miles PM. Role of gastric secretion in iron absorption. Gut 1969; 10: 226-229.

