

UNIVERSIDADE DE UBERABA

**“INFEÇÃO POR *Helicobacter pylori* NA MUCOSA GÁSTRICA:
HISTÓRIA CLÍNICA, ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA, EXAME
ANATOMOPATOLÓGICO, GENE *cagA* E SÍTIOS DE
FOSFORILAÇÃO CagA EPIYA”.**

NATALIA MARIA JACOM WOOD DA SILVA

UBERABA

2014

NATALIA MARIA JACOM WOOD DA SILVA

**“INFECCÃO POR *Helicobacter pylori* NA MUCOSA GÁSTRICA:
HISTÓRIA CLÍNICA, ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA, EXAME
ANATOMOPATOLÓGICO, GENE *cagA* E SÍTIOS DE
FOSFORILAÇÃO CagA EPIYA”.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Biopatologia, Universidade de Uberaba, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: **Profa. Dra. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues**

UBERABA

2014

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

Silva, Natalia Maria Jacom Wood da.

S38i Infecção por *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica: história clínica, endoscopia digestiva alta, exame anatomopatológico, gene *cagA* e sítios de fosforilação *CagA EPIYA* / Natalia Maria Jacom Wood da Silva. – Uberaba, 2014.
104 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área de Biopatologia, 2014.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues

1. Biologia molecular. 2. *Helicobacter pylori*. 3. Estômago - Inflamação. I. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área de Biopatologia. II. Título.

CDD 571.6

Ata da Sessão Pública de defesa de dissertação para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Biopatologia, a que se submeteu a aluna Natália Maria Jacom Wood da Silva – matrícula 6102931, orientada pela Prof^ª. Dr^ª. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues.

Aos vinte e oito do mês de março do ano de dois mil e quatorze, às 08h30mim, na sala 2C06 na Universidade de Uberaba, reuniu-se a Comissão Julgadora da defesa em epígrafe indicada pelo Colegiado do Programa de Mestrado em Odontologia da Universidade de Uberaba, composta pelos Professores Doutores: Denise Bertulucci Rocha Rodrigues - **Presidente**, Cesar Penazzo Lepri e Adriana Gonçalves de Oliveira para julgar o trabalho da candidata Natália Maria Jacom Wood da Silva, apresentado sob o título: **“INFEÇÃO POR Helicobacter pylori NA MUCOSA GÁSTRICA: HISTÓRIA CLÍNICA, ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA, EXAME ANATOMOPATOLÓGICO, GENE cagA E SÍTIOS DE FOSFORILAÇÃO cagA EPIYA”** . O Presidente declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros da Comissão Julgadora. A seguir a candidata dissertou sobre o seu trabalho e foi arguida pela Comissão Julgadora, tendo a todos respondido às respectivas arguições. Terminada a exposição, a Comissão reuniu-se e deliberou pelo seguinte resultado:


APROVADO

REPROVADO (anexar parecer circunstanciado elaborado pela Comissão Julgadora)

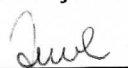
Para fazer jus ao título de MESTRE EM ODONTOLOGIA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO BIOPATOLOGIA, a versão final da dissertação, considerada aprovada devidamente conferida pela Secretaria do Mestrado em Odontologia, deverá ser entregue à Secretaria dentro do prazo de 30 dias, a partir da data da defesa. O aluno Aprovado que não atender a esse prazo será considerado Reprovado. Após a entrega do exemplar definitivo, o resultado será homologado pela Universidade de Uberaba, conferindo título de validade nacional aos aprovados. Nada mais havendo a tratar, O Senhor Presidente declara a sessão encerrada, cujos trabalhos são objeto desta ata, lavrada por mim, que segue assinada pelos Senhores Membros da Comissão Julgadora, pelo Coordenador do Programa de Mestrado em Odontologia da UNIUBE, com ciência do aluno. Uberaba, vinte e oito dias do mês de março de dois mil e quatorze.

Prof^ª. Dr^ª. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues 

Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri 

Prof^ª. Dr^ª. Adriana Gonçalves de Oliveira 

Prof. Dr. André Luis Teixeira Fernandes 
Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Extensão

Flávia Michele da Silva 
Secretária do Programa de Mestrado em Odontologia da UNIUBE

Ciência do Aluno: 

Dedicatória

Dedico este trabalho...

... ao meu marido Emerson, amigo e companheiro e o maior incentivador no meu aperfeiçoamento profissional e acadêmico com muito amor e carinho;

... aos meus filhos Guilherme, Bruno e Larissa, verdadeira razão da minha vida;

... e aos meus pais Yolanda e Geraldo (*in memoriam*) e ao meu irmão Marcos que sempre me incentivaram nas minhas conquistas.

Agradecimientos

- Primeiramente a Deus, pois me permitiu concluir mais uma etapa da minha vida.
- À Profa. Dra. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues, minha orientadora, que com paciência, disponibilidade, carinho e competência me ajudou a concluir este estudo.
- Ao Dr. Wesley Marques de Melo que mobilizou a sua clínica para realização dos exames de endoscopia com boa vontade, dedicação e profissionalismo.
- À Profa. Dra. Sheila Adad pela imensa colaboração, amizade e incentivo realizando os exaustivos e detalhados exames anatomopatológicos dos pacientes e ainda cedendo fotos dos exames para engrandecimento deste trabalho.
- À Profa. Dra. Adriana Gonçalves de Oliveira que abriu as portas do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro permitindo assim aprofundar este estudo.
- À Dra. Fernanda Machado Fonseca que com a sua educação, competência e paciência colaborou diretamente na realização dos exames de microbiologia.
- Ao Prof. Dr. Virmondes Rodrigues que com a sua experiência e competência colaborou com a conclusão deste estudo.
- Ao Prof. Dr. Daurin Narciso da Fonseca que foi bastante prestativo ao permitir trabalhar com os pacientes de seu Serviço de Endoscopia Digestiva Alta da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.
- Às Doutoradas Iracema Saldanha Junqueira, Jussara Gonçalves e Rosemary Nomelini, médicas do Serviço de Endoscopia Digestiva da Universidade Federal do Triângulo Mineiro que mostraram entusiasmo e dedicação na coleta de material dos pacientes.
- Aos funcionários do Serviço de Endoscopia, do Laboratório de Imunologia e do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro que sem a participação deles não teria conseguido concluir este trabalho.
- A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste estudo e que não foram citados aqui.
- Aos pacientes que aceitaram participar deste trabalho e com boa vontade nos forneceram dados preciosos.

Resumo

RESUMO

INTRODUÇÃO: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria altamente prevalente em nosso meio e pode estar diretamente envolvida em várias doenças do trato digestivo superior como gastrite, úlcera péptica e câncer gástrico. Sabe-se que a agressividade da bactéria está diretamente relacionada à sua capacidade de produzir citotoxinas e em especial a CagA. Muito se tem estudado acerca destas citotoxinas no câncer gástrico, porém, neste estudo tentou-se achar algum dado preditivo clínico, endoscópico e no exame anatomopatológico para a presença desta bactéria. **OBJETIVOS:** Estudar a presença de infecção por *H. pylori* na mucosa gástrica com a história clínica, antecedentes clínicos, doenças concomitantes, dados no exame de endoscopia digestiva alta (EDA) do exame anatomopatológico (EAP), gene *cagA* e sítios de fosforilação CagA EPIYA. **METODOLOGIA:** Foram avaliados 126 pacientes submetidos ao exame de endoscopia digestiva alta com queixas clínicas do trato digestivo superior. Para este estudo, antes da realização do exame de endoscopia digestiva alta foi feito um questionário clínico, e durante o exame endoscópico, realizaram-se biópsias múltiplas do esôfago, corpo e antro gástrico e teste rápido da urease. O material obtido das biópsias foi levado ao laboratório de patologia para exame anatomopatológico e parte do material obtido do antro gástrico de 49 pacientes também foi feito um estudo de alguns fatores de virulência da bactéria, isto é, pesquisa de positividade do gene *cagA* e dos sítios de fosforilação CagA EPIYA. **RESULTADOS:** Não encontramos nenhum dado clínico que pudesse ser relacionado à presença do *H. pylori* no estômago. Achados endoscópicos tiveram relevância com a presença e ausência da bactéria, isto é, estômago normal, ausência da bactéria e alterações endoscópicas com a presença da bactéria. Já no exame anatomopatológico tanto a gastrite no corpo gástrico e no antro gástrico tiveram significância com a positividade da bactéria ($p < 0,05$). O *H. pylori* esteve presente no antro gástrico de 42 (33,3%) dos 126 pacientes pelo EAP. O gene *cagA* se mostrou presente em 11 pacientes do grupo dos 49 e foi positivo em 57,9% dos 19 pacientes com *H. pylori* positivo no antro gástrico deste grupo. Os sítios de fosforilação EPIYA se mostraram bastante diversificados, sendo o tipo mais frequente CagA EPIYA ABC (25%). **CONCLUSÕES:** O *H. pylori* não mostrou nenhum fator clínico preditivo de infecção, endoscopicamente os dados obtidos foram importantes para a provável infecção da bactéria e o exame anatomopatológico

mostrou-se necessário para classificar as diferentes gastrites e/ou alterações anatomopatológicas provocadas pela bactéria. O teste de urease no antro gástrico mostrou uma positividade em 24 (19,0%) pacientes enquanto 42 (33,3%) pacientes tiveram a bactéria presente no exame anatomopatológico na mesma região do estômago. A presença da citotoxina CagA é muito importante, porém ainda está aquém dos exames de rotina na prática diária.

Palavras-chave: *Helicobacter pylori*, gastrite, gene *cagA*, CagA EPIYA.

Abstract

ABSTRACT

BACKGROUND: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is a highly prevalent bacteria in our environment and can be directly involved in various diseases of the upper digestive tract such as gastritis, peptic ulcer and gastric cancer. It is known that the aggressiveness of bacteria is directly related to their ability to produce cytotoxins and in particular CagA. Much has been studied about these cytotoxins in gastric cancer, however, in this study we tried to find some clinical, endoscopic and histopathological examination for the presence of this bacterium predictive data. **AIMS:** To study the presence of *H. pylori* infection in gastric mucosa with clinical history, medical history, concomitant diseases, examination of data in endoscopy (EDA) histopathological examination (EAP), the *cagA* gene and CagA phosphorylation sites EPIYA. **METHODOLOGY:** 126 patients undergoing upper endoscopy examination with clinical complaints of the upper digestive tract were evaluated. For this study, prior to the endoscopy examination was made a clinical questionnaire and during the endoscopic examination, there were multiple biopsies of the esophagus, gastric body and antrum and rapid urease test. The material obtained from the biopsies was taken to the pathology laboratory for pathological examination and part of the material obtained from the gastric antrum of 49 patients a study of some virulence factors was also done, ie, search of the *cagA* gene positivity and sites CagA phosphorylation EPIYA. **RESULTS:** We found no clinical symptom that could be related to the presence of *H. pylori* in the stomach. Endoscopic findings have relevance to the presence and absence of bacteria, i.e. normal stomach, the absence of bacteria and endoscopic changes with the presence of bacteria. You either pathological examination gastritis in the gastric body and antrum were significant with the positivity of bacteria ($p < 0.05$). *H. pylori* was present in the gastric antrum of 42 (33.3%) of 126 patients in EAP. The *cagA* gene was present in 11 patients in the group of 49 and was positive in 57.9 % of 19 patients with *H. pylori* positive gastric antrum in this group. The phosphorylation sites EPIYA proved very diverse, with the most frequent type CagA EPIYA ABC (25%). **CONCLUSIONS:** *H. pylori* showed no clinical factor predictive of infection,

endoscopic data were important to the probable infection of the bacteria and the pathology examination was necessary to classify the different gastritis and/or pathological changes caused by the bacterium. The urease test in gastric antrum showed a positivity in 24 (19.0%) patients while 42 (33.3%) patients had to present the pathological examination in the same region of the stomach bacterium. The presence of the cytotoxin CagA is very important, but is still far from routine examinations in daily practice.

Keywords: *Helicobacter pylori*, gastritis, *cagA* gene, CagA EPIYA.

Sumário

SUMÁRIO

Dedicatória	2
Agradecimentos	4
Resumo	6
Abstract	9
Sumário	13
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	16
LISTA DE TABELAS	18
LISTA DE FIGURAS	20
LISTA DE GRÁFICOS	21
1. INTRODUÇÃO.....	23
1.1 Revisão da literatura	23
1.2 Fatores de Virulência envolvidos na Patogenicidade do <i>Helicobacter pylori</i>	26
2. HIPÓTESE	31
3. OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo geral	33
3.2 Objetivos específicos	33
4. METODOLOGIA.....	35
4.1 Pacientes e amostras biológicas.....	35
4.2 Distribuição dos pacientes	36
4.3 Critérios de exclusão do estudo	38

4.4 Metodologia da Endoscopia Digestiva Alta	38
4.5 Metodologia do Exame Anatomopatológico	44
4.6 Diagnóstico da infecção pelo <i>H. pylori</i>	48
4.6.1 Teste rápido da urease	48
4.6.2 Pesquisa de <i>H. pylori</i> no exame anatomopatológico	49
4.6.3 Extração de DNA e amplificação do gene 16S rRNA.....	50
4.7 Amplificação do gene <i>cagA</i> e da região 3' variável do gene <i>cagA</i>	51
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
6. RESULTADOS	56
6.1 Características clínicas da amostra (N=126)	56
6.2 Características clínicas da amostra em relação à positividade do <i>H. pylori</i> no antro e/ou corpo gástrico pesquisado através do exame anatomopatológico (EAP) (N=126).	56
6.3 Características endoscópicas da amostra em relação à positividade do <i>H. pylori</i> no antro e/ou corpo gástrico pesquisado através do EAP (N=126).	59
6.4 Características da amostra no EAP em relação à positividade do <i>H. pylori</i> antro e/ou corpo gástricos (N=126).	64
6.4.1 Esôfago (EAP).....	64
6.4.2 Corpo gástrico (EAP.....	64
6.4.3 Antro gástrico (EAP)	67
6.5 Características da amostra no estudo da biologia molecular em relação à positividade do <i>H. pylori</i> (N=49).....	70
7. DISCUSSÃO	78
8. CONCLUSÕES	85
9. REFERÊNCIAS	87
10. ANEXOS	93
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	93
Autorização.....	95

Questionário Médico para Pesquisa Clínica.....	96
Exame de Endoscopia Digestiva Alta	98
Exame Anatomopatológico	99
Parecer da Diretoria de Pesquisa da UFTM	100
Parecer Consusbtanciado do CEP (UNIUBE)	101

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ala: Alanina

BabA: blood group antigen binding adhesin

cagA: gene da citotoxin antigen associated

cagA: gene cagA

CagA: citotoxin antigen associated

cagPAI: ilha de patogenicidade associada ao gene cag

°C: graus Celsius

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

EAP: Exame Anatopatológico

EDA: Endoscopia Digestiva Alta

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

DRGE: Doença do Refluxo Gastroesofágico

EPIYA: Glutamine-Proline-Isoleucine-Tyrosine-Alanine (Glu-Pro-Ile-Tir-Ala)

ER: Esofagite de Refluxo

et al: e colaboradores

Glu: Ácido Glutâmico

H⁺: Íon Hidrogênio (bomba de prótons)

H. pylori: Helicobacter pylori

IBP: Inibidor de Bomba de Prótons

iceA: induced by contact with epithelium

IL: Interleucina

Ile: Isoleucina

MALT: Tecidos Linfoides Associados às Mucosas

MG: Minas Gerais

μL: microlitro

μm: micromêtro

mg: miligrama

mL: mililitro

pb: pares de bases

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase

pH: Potencial Hidrogeniônico

PAI: Ilha de Patogenicidade

Pro: Prolina

RNA: Ácido Ribonucleico

rRNA: Ácido Ribonucleico Ribossômico

SPSS: *Statistical Package for the Social Sciences*

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Tyr: Tirosina

U: Unidades

UFTM: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

UNIUBE: Universidade de Uberaba

VacA: *vacuolating cytotoxin gene*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – <i>Primers</i> utilizados na PCR para detecção de genes do <i>H. pylori</i>	52
Tabela 2 - Comparação de dados clínicos com a presença do <i>H. pylori</i> pesquisado no antro gástrico através do EAP (N=126).....	57
Tabela 3 – Em uso de IBP e positividade do <i>H. pylori</i> no corpo gástrico.....	58
Tabela 4 – Em uso de IBP e positividade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico	58
Tabela 5 – Esofagite de refluxo (EDA) pela classificação de Los Angeles (LA) e positividade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP	60
Tabela 6 – Corpo gástrico normal e positividade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP	60
Tabela 7 – Gastrite de corpo gástrico e positividade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP	61
Tabela 8 – Antro gástrico normal e positividade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP	62
Tabela 9 – Classificação da gastrite de antro gástrico e positividade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP	62
Tabela 10 - Comparação de positividade do teste da urease realizado no antro gástrico.....	63
Tabela 11 – Corpo gástrico normal (EAP) e a densidade do <i>H. pylori</i> no corpo	65
Tabela 12 - Gastrite ativa no corpo gástrico (Classificação no EAP) e a densidade do <i>H. pylori</i> no corpo gástrico pesquisado (EAP)	65
Tabela 13 - Gastrite crônica no corpo gástrico (Classificação no EAP) e a densidade do <i>H. pylori</i> no corpo gástrico pesquisado (EAP).....	66
Tabela 14 - Antro gástrico normal (EAP) e positividade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP	67
Tabela 15 - Gastrite ativa no antro gástrico (Classificação no EAP) e densidade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP.....	68
Tabela 16 - Gastrite crônica no antro gástrico (Classificação no EAP) e densidade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico pesquisado através do EAP	69

Tabela 17 – Gastrite ativa no antro gástrico (Classificação no EAP) e a presença do gene <i>cagA</i> do <i>H. pylori</i>	70
Tabela 18 – Gastrite crônica no antro gástrico (Classificação no EAP) e a presença do gene <i>cagA</i> do <i>H. pylori</i>	71
Tabela 19 - Relação do CagA EPIYA pesquisado no antro gástrico e gastrite ativa no antro gástrico (EAP)	74
Tabela 20 - Relação do CagA EPIYA pesquisado no antro gástrico e gastrite crônica no antro gástrico (EAP)	75
Tabela 21 - Relação do CagA EPIYA pesquisado no antro gástrico e densidade do <i>H. pylori</i> ... pesquisado no antro gástrico (EAP)	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>H. pylori</i> e seus fatores de virulência (MORALES-GUERRERO et al., 2013).	28
Figura 2 - Sítios de fosforilação CagA EPIYA	29
Figura 3 – Metodologia utilizada	37
Figura 4 – Esôfago normal	39
Figura 5- Esofagite erosiva grau B	40
Figura 6 - Estômago normal	41
Figura 7 - Gastrite erosiva antral	41
Figura 8 - Gastrite enantematosa de fundo gástrico	42
Figura 9 - Gastrite nodular	42
Figura 10 - Escala analógica visual proposta pela reunião de Houston de 1994 para classificação/graduação de gastrites (BACCHI et al., 2005).....	45
Figura 11 - Gastrite crônica sem atividade inflamatória: infiltrado	45
Figura 12- Gastrite crônica intensa; presença de folículo linfóide (HE - 40x).....	46
Figura 13 Foco com atividade inflamatória: neutrófilos permeando o epitélio foveolar (HE – 400x).....	46
Figura 14 - Gastrite com atrofia glandular discreta (grau I ou focal).....	47
Figura 15 - Resultado do teste da urease	48
Figura 16 - Kit teste da urease - RNA laboratórios	49
Figura 17 - Numerosos bacilos compatíveis com <i>H. pylori</i> no interior de foveolas (Warthin Starry – 1000x). Seta na cor vermelha	50
Figura 19 - .Eletroforese de amostras representativas dos diferentes sítios EPIYA da proteína CagA observados em pacientes <i>H. pylori</i> -positivos. PM: Marcador de peso molecular de 100 pares de bases; Colunas 1, 2 e 5: EPIYA-ABC; Coluna 3: EPIYA-ABC+ABCC; Coluna 4 e 6: EPIYA-ABCC.	72

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Frequência da densidade do <i>H. pylori</i> no antro gástrico	63
Gráfico 2 - Sítios CagA EPIYA pesquisados no antro gástrico	73

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa, espiralada, altamente móvel, encontrada na superfície luminal do epitélio gástrico e foi isolada pela primeira vez em 1983 por Warren e Marshall (WARREN; MARSHALL, 1983).

A bactéria foi classificada inicialmente como pertencente ao gênero *Campylobacter*, que é composto por microrganismos gram-negativos em forma de bastão curvado, oxidase e catalase positivas, que se locomovem através de flagelos polares. Com isto, foram primeiramente chamados de “gastric *Campylobacter* like organism”, e só posteriormente recebendo denominações de *Campylobacter pyloridis*, *Campylobacter pyloricus* e *Campylobacter pylori* (GOODWIN et al., 1985).

Estudos ultraestruturais e de análise da sequência de ácidos nucléicos realizados em 1989 fez com que a bactéria passasse a receber a denominação de *Helicobacter* (forma helicoidal), diferenciando do gênero anteriormente enquadrado *Campylobacter* (bastão curvado). A espécie, por ser mais encontrada na mucosa do antro gástrico, próxima ao piloro, ficou sendo chamada de *Helicobacter pylori* (GOODWIN, 1989).

1.1 Revisão da literatura

Provavelmente, o *H. pylori* é a infecção bacteriana crônica mais comum nos seres humanos e está presente em quase metade da população mundial. A presença da bactéria na mucosa gástrica está associada com gastrite crônica ativa, está envolvida em doenças gástricas mais graves, incluindo a gastrite crônica atrófica (um dos precursores do carcinoma gástrico), úlcera péptica e linfoma gástrico de Tecidos Linfoides Associados às Mucosas (MALT) (COVER; BLASER, 1996).

A Organização Mundial de Saúde estabeleceu, em 1994, ser a bactéria um fator essencial na patogênese do carcinoma gástrico, isto é, agente carcinogênico tipo I (UEMURA et al., 2001; WEN; MOSS, 2009).

A bactéria apresenta de 3 a 5µm de comprimento e de 0,5 a 1µm de largura. Usualmente tem um formato espiralado, porém pode aparecer como um bastão, enquanto que raramente formas cocoides também podem surgir (KUSTERS; VAN VLIET; KUIPERS, 2006).

O *H. pylori* apresenta de 2 a 6 flagelos unipolares de aproximadamente 3µm de comprimento, com um bulbo em seu final. Estas estruturas fazem com que ela tenha motilidade e movimentos rápidos em soluções viscosas como o muco que recobre células epiteliais (O'TOOLE; LANE; PORWOLLIK, 2000).

A bactéria pode sobreviver em ambiente ácido do estômago particularmente devido a sua alta produção de urease, que converte a ureia presente no suco gástrico em amônia alcalina e dióxido de carbono (MARSHALL, B. J. et al., 1990).

H. pylori induz inflamação crônica da mucosa subjacente e a infecção é geralmente contraída nos primeiros anos de vida e tende a persistir indefinidamente, a menos que seja tratada (EVERHART, 2000).

A transmissão da bactéria pode ocorrer de diferentes formas de pessoa para pessoa, oral-oral (ALLAKER et al., 2002), fecal-oral (GRUBEL et al., 1997), gástrica-oral (NGUYEN, T. N.; BARKUN; FALLONE, 1999). A cavidade bucal pode ser importante no processo de transmissão da bactéria ou na reinfecção do estômago após ter feito o tratamento de erradicação (DOWSETT; KOWOLIK, 2003).

Sua prevalência aumenta com a idade avançada e com um menor nível socioeconômico durante a infância e com isto, variando consideravelmente em torno do mundo (WOODWARD; MORRISON; MCCOLL, 2000). Uma vez sendo mais prevalente em grupos etários mais velhos faz pensar em piores condições de vida das crianças em décadas anteriores, e pelo menos 50% da população do mundo tem infecção pelo *H. pylori* (EVERHART, 2000; SHI et al., 2008)

A prevalência da bactéria no Brasil, foi estimada em torno de quase 70%, aumentou com a idade, independe do sexo, foi mais baixa na população branca. Não foi observada relação entre infecção e cigarro, drogas e álcool. Uma relação positiva foi observada com realização de endoscopia digestiva alta, do tipo de água potável, independente se atualmente ou durante a infância. A falta de vaso sanitário em casa durante a infância mostrou uma maior

taxa de infecção pela bactéria. Menor renda familiar e nível de escolaridade demonstrou uma positividade para a infecção. Uma maior associação também foi observada em ambientes com maior aglomeração (ZATERKA et al., 2007).

A gastrite é o processo básico que resulta da agressão do *H. pylori* no estômago com seus mecanismos imunológicos celulares e humorais. Obviamente a extensão e a distribuição desta gastrite é que determina o resultado clínico e com isto três fenótipos gástricos são identificados. O fenótipo mais comum é uma gastrite simples e benigna, caracterizada por uma pangastrite leve e com um mínimo de perturbação de secreção de ácido gástrico. Este fenótipo é comumente observado em indivíduos que são assintomáticos e que de um modo geral não desenvolvem doenças gastrintestinais severas. O segundo fenótipo é chamado como úlcero duodenal e é responsável por até 15% dos indivíduos infectados, particularmente em países ocidentais onde estes tipos de úlceras são mais comuns. Neste fenótipo a gastrite tem um padrão antral e a produção de ácido clorídrico pelo corpo é mantida e sendo produzida em maior quantidade, pois o corpo gástrico é preservado. Uma maior quantidade de úlceras duodenais surge. O terceiro e mais grave fenótipo é o do “fenótipo de câncer gástrico” caracterizado pela presença de gastrite predominante no corpo e atrofia gástrica multifocal com hipo ou acloridria. Estas anormalidades afetam 1% dos indivíduos infectados que desenvolvem inflamação crônica induzida pela infecção e assim aumenta o risco de câncer gástrico. Este fenótipo é mais prevalente em regiões da Ásia, onde este tipo de câncer é mais comum (AMIEVA; EL-OMAR, 2008).

A infecção pelo *H. pylori* é um cofator no desenvolvimento de três importantes doenças do trato gastrointestinal superior: úlceras duodenais e gástricas (reportada a desenvolver-se em torno de 1 a 10% dos pacientes infectados), câncer gástrico (em 0,1 a 3%) e linfoma tipo MALT (em <0,01%). O risco destas doenças em pacientes infectados varia amplamente entre as populações. Sabe-se também que, a grande maioria dos pacientes com infecção por *H. pylori* permanecerá assintomática e conseqüentemente não terá nenhuma complicação, nem manifestação clínica (MCCOLL, 2010).

Um grande número de estudos foi feito para avaliar a relação entre a infecção pelo *H. pylori* e Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE), porém esta ainda permanece indefinida (PANDOLFINO; HOWDEN; KAHRILAS, 2004).

Foram estabelecidas indicações para o diagnóstico e tratamento do *H. pylori* conforme enunciadas a seguir (CHEY; WONG; PRACTICE PARAMETERS COMMITTEE OF THE AMERICAN COLLEGE OF, 2007):

Estabelecidas:

- Doença ulcerosa péptica ativa (úlceras gástrica ou duodenal)
- História confirmada de doença ulcerosa péptica (não previamente tratados para *H. pylori*)
- Linfoma gástrico tipo MALT (baixo grau)
- Após ressecção endoscópica de câncer gástrico precoce
- Dispepsia não investigada (dependendo da prevalência de *H. pylori*)

Controversas:

- Dispepsia não ulcerosa
- DRGE
- Pessoas usando anti-inflamatórios não esteroides
- Anemia por deficiência de ferro inexplicada
- Populações com maior risco de câncer gástrico

1.2 Fatores de Virulência envolvidos na Patogenicidade do *Helicobacter pylori*

Muitos são os fatores de virulência envolvidos na patogenicidade do *H. pylori*, incluindo várias enzimas (urease, catalase, lipase, fosfolipase e protease) (RADOSZ-KOMONIEWSKA et al., 2005). A mais importante destas enzimas é a urease, que é essencial para a sobrevivência da bactéria em meio extremamente ácido, como a cavidade gástrica e assim facilitando a colonização na mucosa gástrica. Como já citado, a urease catalisa a degradação da ureia em amônia e dióxido de carbono, o que torna o meio mais alcalino e assim, permitindo a sobrevivência do microrganismo (MCGEE; MOBLEY, 1999).

Outros fatores de virulência têm sido estudados, porém ainda necessitando de mais estudos para ver a relação dos mesmos às evoluções clínicas (SUERBAUM; MICHETTI,

2002). Os mais investigados são a presença de adesinas (BabA2) (MATTAR et al., 2005; SUERBAUM; MICHETTI, 2002), os genes *iceA* e seus variantes (*iceA1* e *iceA2*) (YAMAOKA et al., 1999), o gene *OipA* (HOCKER; HOHENBERGER, 2003) e outros.

O *H. pylori* também produz a toxina vacuolizadora (VacA), que é codificada pelo gene *vacA*, que está presente em todas as cepas de *H. pylori*. A atividade citotóxica de *vacA* varia de acordo com a sua estrutura genética. Algumas linhagens possuem a forma mais danosa e apresentam a variação s1 e m1 (MARSHALL, B., 2002; RADOSZ-KOMONIEWSKA et al., 2005).

O gene *cagA* está associado à citotoxina CagA, que foi descrito em 1989 (COVER; DOOLEY; BLASER, 1990) e atualmente é considerado um importante marcador de cepas que conferem risco aumentado para doença péptica ulcerosa (CRABTREE et al., 1991) e carcinoma gástrico (SONG et al., 2013). Este gene caracteriza a chamada “ilha de patogenicidade”: PAI (CENSINI et al., 1996; YAMAOKA, 2012). Com isto, a presença da *cagPAI* e de algumas citotoxinas são consideradas como os principais fatores de agressividade bacteriana. A presença do gene *cagA* é observada somente nas amostras mais virulentas do *H. pylori* (RADOSZ-KOMONIEWSKA et al., 2005).

Nos países ocidentais aproximadamente 30 a 40% das cepas da bactéria não possuem este gene, enquanto nos países do leste asiático praticamente todas as cepas são *cagA* positivas (HATAKEYAMA, 2009). As infecções com as cepas *cagA* positivas têm sido associadas com graus mais elevados de inflamação da mucosa gástrica, daí parece desempenhar um papel importante no desenvolvimento do câncer gástrico, tanto do tipo difuso quanto do intestinal (PARSONNET et al., 1997; WANG et al., 2007).

A *cagPAI* contém aproximadamente 30 genes, incluído o *cagA*, codifica um sistema de secreção bacteriano tipo IV (CENSINI et al., 1996) que por sua vez “injeta” a citotoxina CagA e, possivelmente, outras proteínas bacterianas nas células hospedeiras (ASAHI et al., 2000). A proteína CagA translocada localiza-se então na parte interna da membrana plasmática, onde sofre tirosina fosforilação, através de uma das enzimas da família quinase (HATAKEYAMA, 2009) (Figura 1).

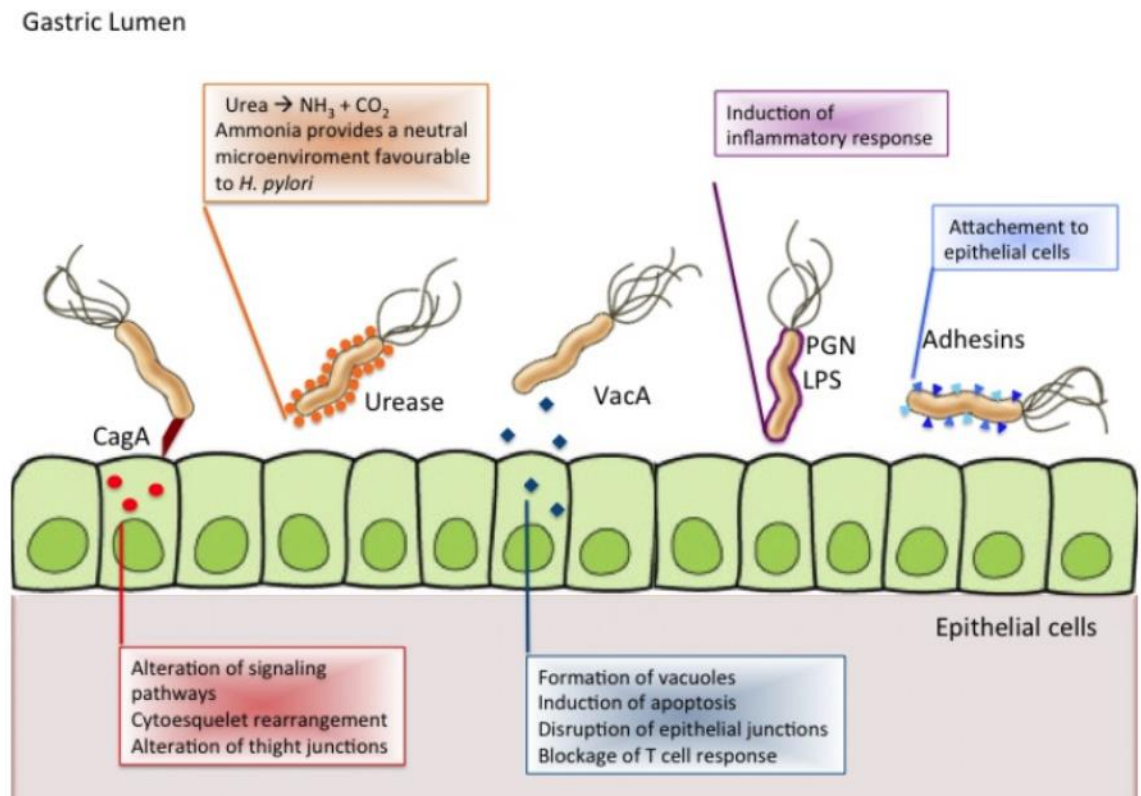


Figura 1 - *H. pylori* e seus fatores de virulência (MORALES-GUERRERO et al., 2013).

A proteína CagA possui uma sequência repetida de 5 aminoácidos (ácido glutâmico-prolina-isoleucina-tirosina-alanina), que constituem sítios de fosforilação na proteína CagA e assim denominados de EPIYA (NGUYEN, L. T. et al., 2009). Devido à frequente recombinação homóloga na região 3' do gene *cag*, a região de repetição da EPIYA-CagA é altamente divergente entre as espécies de *H. pylori* CagA positivas, com isto surgindo diferentes combinações e fazendo com que o domínio EPIYA seja dividido em quatro extensões com base na sequência de aminoácidos que compõe cada um deles. São assim denominadas: EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C e EPIYA-D. De acordo com a combinação destes domínios, as cepas produtoras de CagA foram divididas em dois grupos, sendo que as amostras de *H. pylori* presentes nos países ocidentais possuem os domínios EPIYA-A e EPIYA-B seguidos de uma a cinco repetições do EPIYA-C, e as amostras do Leste Asiático, apresentam os domínios EPIYA-A e EPIYA-B seguidos do EPIYA-D (HATAKEYAMA, 2006).

Pacientes infectados por amostras de *H. pylori cagA* positivos que possuem número aumentado do sítio EPIYA-C têm apresentado fenômenos celulares que predispõem à oncogênese gástrica (BATISTA et al., 2011; NAITO et al., 2006) (Figura 2).

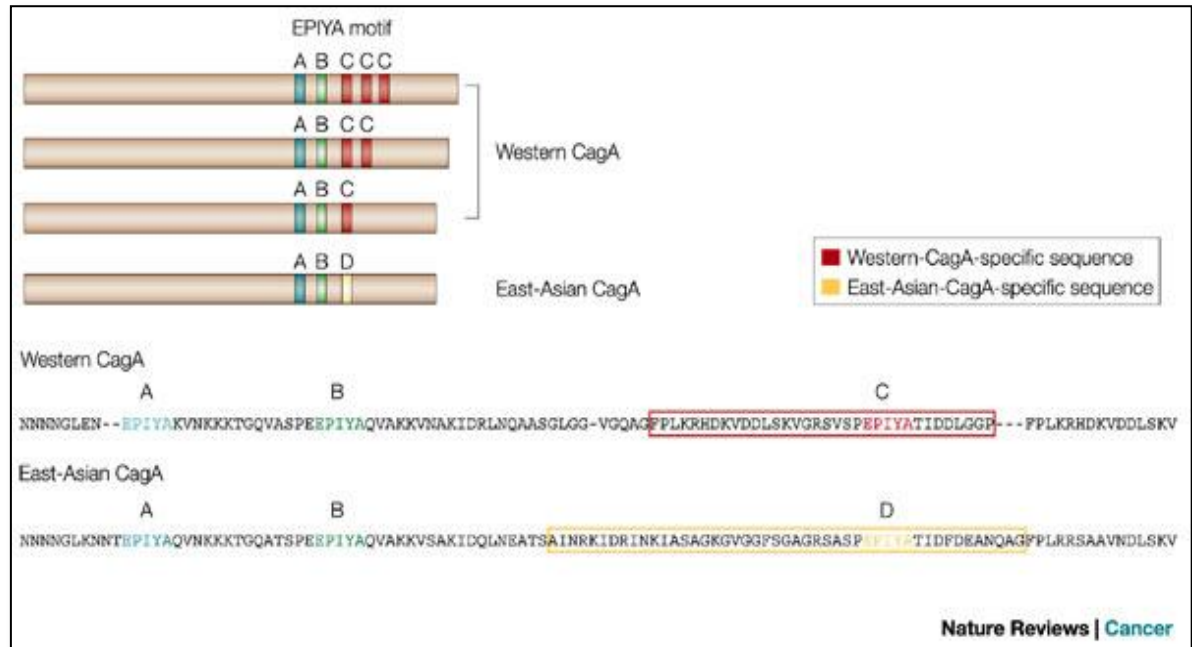


Figura 2 - Sítios de fosforilação CagA EPIYA

Hipótese

2. HIPÓTESE

Pacientes com a infecção pelo *H. pylori* estabelecem um perfil pró-inflamatório e oncogênico gástrico mais intenso na dependência do tipo da cepa bacteriana encontrada e a que apresente a citotoxina CagA e seus sítios de fosforilação.

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar a presença de infecção por *H. pylori* na mucosa gástrica com a história clínica, antecedentes clínicos, doenças concomitantes, dados no exame de endoscopia digestiva alta (EDA) do exame anatomopatológico (EAP), gene *cagA* e sítios de fosforilação CagA EPIYA.

3.2 Objetivos específicos

- Detectar a presença do *H. pylori* em pacientes com sintomas digestivos altos
- Detectar as alterações endoscópicas na mucosa gástrica de pacientes *H. pylori* positivos
- Avaliar as alterações histopatológicas da mucosa gástrica em biópsias do estômago de pacientes *H. pylori* positivos.
- Avaliar a presença do gene *cagA* nas amostras da mucosa gástrica de pacientes *H. pylori* positivos
- Detectar presença dos diferentes genótipos que podem ocorrer na região variável 3' do gene *cagA* (que contém as sequências EPIYA) nas amostras de *H. pylori cagA* positivas

Metodologia

4. METODOLOGIA

O presente estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade de Uberaba (UNIUBE) sob o parecer número 350.874 de 06/08/2013 e com a anuência da Diretoria de Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

4.1 Pacientes e amostras biológicas

Foram selecionados 126 pacientes que apresentavam sintomas do trato digestivo superior e com indicação clínica de exame de EDA, no período de agosto de 2013 a novembro de 2013.

Os pacientes foram distribuídos de forma aleatória independente de já terem sido ou não tratados anteriormente de doença digestiva alta. Quando foi possível, os pacientes que estavam usando medicamentos que poderiam interferir na positividade da pesquisa da bactéria como Inibidores de bomba de prótons (IBP), bloqueadores da histamina (bloqueadores H₂), antibióticos, e corticosteroides, foram orientados a suspender a medicação com pelo menos duas semanas de antecedência à realização do exame de EDA. Não foi levado em consideração o sexo, a idade, a cor, a profissão, a raça e o peso.

Só fizeram parte do presente estudo os pacientes que concordaram em participar do mesmo, lendo e assinando o Temo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os pacientes estudados foram recrutados no Ambulatório Maria da Glória na UFTM e na clínica particular do Dr. Emerson A. Wood da Silva, situada Uberaba-MG.

Antes de serem submetidos ao exame de EDA, os pacientes responderam a um questionário clínico detalhado ao pesquisador responsável. O motivo deste questionário se deveu ao fato de correlacionar sintomatologia, antecedentes clínicos e cirúrgicos e doenças concomitantes com a presença da infecção pelo *H. pylori* e daí obter algum preditivo clínico desta infecção.

Os pacientes que realizaram EDA na UFTM tiveram os fragmentos de biópsias encaminhados para o Laboratório de Patologia da UFTM e parte deste material também foi para o Laboratório de Imunologia/Microbiologia da UFTM.

Já os pacientes procedentes da clínica particular do Dr. Emerson A. Wood da Silva, que concordaram em participar o presente estudo, foram encaminhados para exame de EDA a ser realizada com médico participante desta pesquisa clínica. As biópsias obtidas durante a EDA, foram encaminhadas para estudo em Laboratórios de Anatomia Patológica também participantes do trabalho em questão. Uma outra parte do material coletado foi encaminhada ao Laboratório de Imunologia/Microbiologia da UFTM.

A seleção dos casos ocorreu a partir da análise de planilha eletrônica montada no Software Excel® (Microsoft Corporation®, USA). Esta planilha foi constituída de informações inseridas conforme questionário feito pelos pesquisadores responsáveis.

A confidencialidade das informações dos pacientes foi garantida pela codificação alfa numérica da identificação do paciente em planilha eletrônica e com direito de saída.

4.2. Distribuição dos pacientes

Participaram do presente estudo um total de 126 pacientes com sintomas do trato digestivo superior e que foram submetidos ao exame de EDA.

Durante o exame de EDA, todos os pacientes foram submetidos a biópsias da mucosa distal do esôfago, do corpo e do antro gástrico, conforme padronização na literatura e estabelecida pela Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva Alta (SOBED).

O número de biópsias ficou na dependência das alterações encontradas durante o exame de endoscopia, porém não menos que quatro fragmentos de cada local (esôfago distal, corpo e antro gástrico).

Fragmentos procedentes das biópsias do terço distal do esôfago, corpo e antro gástrico foram colocados separadamente em frascos com formol tamponado a 4% para a realização do exame anatomopatológico comum de rotina.

Um fragmento a mais da mucosa do antro gástrico foi retirado para execução da pesquisa do *H. pylori* pelo teste rápido da urease imediatamente após o exame de EDA.

Os 126 pacientes foram distribuídos em grupos diferentes na dependência da positividade do *H. pylori* no corpo gástrico e no antro gástrico e assim comparados com o grupo que não apresentou a positividade para a bactéria através dos seguintes meios diagnósticos realizados: teste rápido da urease no antro gástrico, exame anatomopatológico para investigar a presença do *H. pylori* no corpo e antro gástrico.

De forma randomizada também foram selecionados 49 dos 126 pacientes para extração do DNA com amplificação do gene 16S *rRNA* em um outro fragmento do antro gástrico e por fim amplificação do gene *cagA* e da região 3' variável do gene *cagA* e estudo dos sítios de fosforilação CagA EPIYA. Para este estudo, no momento do exame de EDA este fragmento do antro gástrico foi colocado, a fresco, em frasco contendo *RNAlater*® (Life Technologies Corporation®, USA) para conservação, resfriamento e realização da biologia molecular, conforme citado.

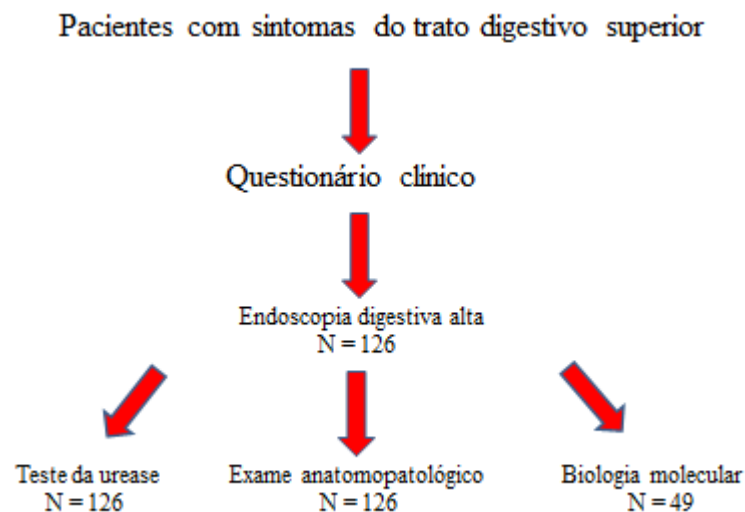


Figura 3 – Metodologia utilizada

4.3. Critérios de exclusão do estudo

Foram excluídos deste estudo os pacientes com:

- 1) Não concordância em participar
- 2) Cirurgia prévia do trato digestivo superior
- 3) Grávidas
- 4) Pacientes com presença de comorbidades graves como neoplasias, doenças do colágeno e distúrbios de coagulação.
- 5) Pacientes fazendo uso de antibióticos, anti-inflamatórios, corticosteroides e/ou outros medicamentos que o médico pesquisador no momento do questionário clínico achou oportuno a exclusão do estudo em questão.
- 6) Pacientes que no momento do exame de endoscopia, a critério do médico pesquisador, não apresentavam condições físicas ou mentais de participação do estudo.

4.4 Metodologia da Endoscopia Digestiva Alta

Os exames endoscópicos foram realizados segundo a técnica convencional com aparelhos videoendoscópios (Olympus® GIF Q150, Tóquio, Japão) por médicos experientes e seguindo uma sistemática preconizada pela SOBED e com padronização dos diagnósticos e locais das biópsias.

Os pacientes se apresentavam em jejum de doze horas. Inicialmente recebiam anestesia tópica da orofaringe com aplicações de *spray* de xilocaína a 10% e administrada solução IV, contendo midazolam (de 2,5 a 5,0mg) e meperidina (de 30 a 50mg), para fins de sedação.

Os possíveis diagnósticos endoscópicos adotados foram: esôfago normal, esofagite erosiva, úlcera esofágica, hérnia do hiato esofágico, esôfago de Barrett, hiato esofágico alargado, estômago normal, gastrite erosiva, gastrite enantematosa, úlcera gástrica (ativa ou cicatrizada), duodenite, úlcera duodenal (ativa ou cicatrizada), duodeno normal. Na parte de anexos encontra-se o protocolo do exame endoscópico usado no estudo.

O esôfago foi considerado normal à endoscopia quando, além de ausentes as alterações descritas acima, seu revestimento mucoso mostrava-se liso, de coloração róseo-nacarada, com fina trama vascular em paliçada passível de ser distinguida por transparência (MALUF FILHO et al.,1999) (Figura 4)



Figura 4 – Esôfago normal

A esofagite erosiva de refluxo foi considerada como o aspecto anormal da mucosa esofágica com soluções de continuidade superficiais (erosões) de forma arredondada ou linear, desnudadas ou revestidas de exsudato de fibrina, ou ainda semelhantes a aftas, isoladas ou confluentes. Consideraram-se ulcerações esofágicas as soluções de continuidade mais profundas da mucosa. Para a classificação da gravidade endoscópica da esofagite de refluxo utilizou-se aquela proposta pela Classificação de Los Angeles:

GRAU A: uma (ou mais) solução de continuidade da mucosa confinada às pregas mucosas, não maiores que 5mm cada;

GRAU B: pelo menos uma solução de continuidade da mucosa com mais de 5mm de comprimento, confinada às pregas mucosas e não contíguas entre o topo de duas pregas (Figura 5);



Figura 5- Esofagite erosiva grau B

GRAU C: pelo menos uma solução de continuidade da mucosa contígua entre o topo de duas (ou mais) pregas mucosas, mas não circunferencial (ocupa menos que 75% da circunferência do esôfago);

GRAU D: uma ou mais solução de continuidade da mucosa circunferencial (ocupa no mínimo 75% da circunferência do esôfago).

Obs.: As complicações (estenose, Barrett) são apresentadas à parte e podem ou não ser acompanhadas pelos vários graus de esofagite.

O estômago foi considerado normal, quando apresentava coloração uniformemente rósea, com superfície lisa e íntegra e pregas gástricas tortuosas e de distribuição regular no corpo gástrico, as quais desaparecem no antro (Figura 5).



Figura 6 - Estômago normal

Gastrite erosiva foi caracterizada por erosões, rupturas superficiais da mucosa gástrica representadas como lesões planas ou levemente deprimidas, esbranquiçadas, com halo avermelhado, tipo aftas; ou como pápulas avermelhadas com depressão central; ou ainda como pontos avermelhados lembrando petéquias, podendo ter exsudato esbranquiçado aderido ou friabilidade ao toque do endoscópio ou da pinça de biopsia (Figura 7).



Figura 7 - Gastrite erosiva antral

Gastrite enantematosa foi caracterizada por vermelhidão da mucosa sem erosão, podendo ser focal ou comprometer áreas extensas da mucosa gástrica (Figura 8).



Figura 8 - Gastrite enantematosa de fundo gástrico

Gastrite nodular foi considerada quando nodulações surgem na mucosa do estômago, e este tipo de gastrite na maioria das vezes está relacionado com a presença de infecção pelo *H. pylori* (Figura 9).

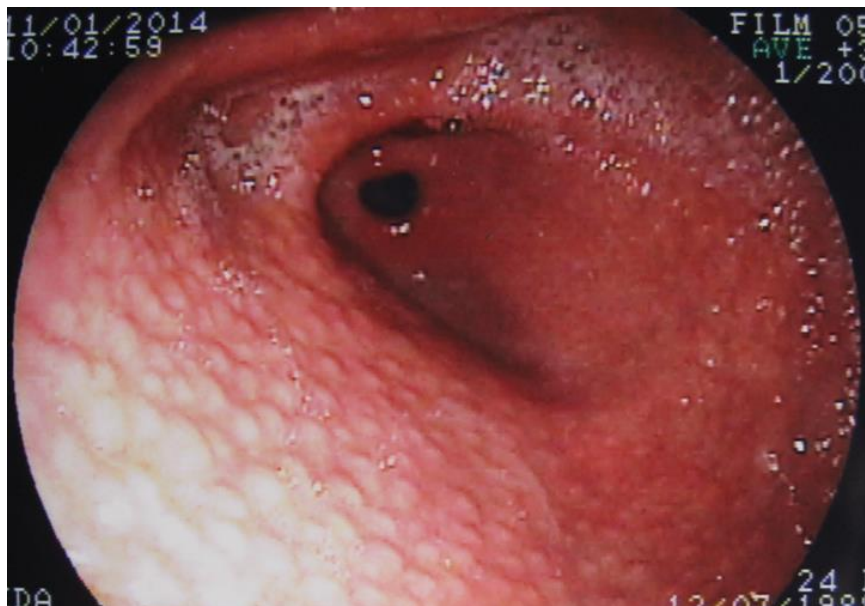


Figura 9 - Gastrite nodular

Considerou-se úlcera ativa a quebra da integridade da mucosa em área circunscrita, em geral arredondada ou ovalada ou, ainda, fusiforme ou em forma de estrela, mais profunda que as erosões, atingindo a camada muscular da mucosa. Úlcera cicatrizada foi caracterizada pela presença de cicatriz linear branca ou vermelha na mucosa.

O duodeno foi considerado normal quando não apresentava deformidade no bulbo e a superfície da mucosa era lisa, íntegra, de coloração rósea. Duodenite erosiva e úlcera duodenal foram consideradas as alterações da mucosa duodenal semelhantes às descritas para a gastrite erosiva e para a úlcera gástrica.

4.5 Metodologia do Exame Anatomopatológico

Após a coleta por biópsia, os fragmentos esofágicos e gástricos foram colocados em formol tamponado a 4% e enviados ao Serviço de Patologia Cirúrgica do Hospital de Clínicas da UFTM e para outros laboratórios de escolha do paciente quando os mesmos eram procedentes de clínica privada, para serem processados.

Os fragmentos fixados em formol foram desidratados em álcool, diafanizados em xilol e a seguir incluídos em parafina. Cortes histológicos de 5µm de espessura foram obtidos e corados pela técnica de hematoxilina-eosina para estudo histopatológico.

Os achados histopatológicos na mucosa esofágica foram analisados de acordo com os seguintes parâmetros:

- a) Exocitose de eosinófilos no epitélio escamoso;
- b) Exocitose de neutrófilos no epitélio escamoso;
- c) Aumento de mononucleares intra-epiteliais (acima de 10 células mononucleares/campo de grande aumento – objetiva de 40x) e espongiose (edema intercelular);
- d) Hiperplasia da camada basal (mais de 15% da espessura do epitélio);
- e) Superficialização de alças capilares (projeção no terço superior do epitélio, ou seja, alongamento de papilas);
- f) Epitélio colunar com metaplasia intestinal.

Cortes histológicos das biópsias gástricas também foram corados pela técnica Warthin Starry, para facilitar a pesquisa de *H. pylori*, além dos cortes corados pelo método de hematoxilina-eosina (DIXON et al., 1996).

Os achados histológicos da mucosa gástrica foram interpretados de acordo com a classificação de Sidney, com as modificações/graduação propostas pela reunião de Houston (DIXON et al., 1996), utilizando-se a escala analógica visual do referido artigo, que também é recomendada pelo Manual de Padronização de Laudos Histopatológicos da Sociedade Brasileira de Patologia (BACCHI et al., 2005), conforme ilustrada na figura 10 e descritos a seguir:

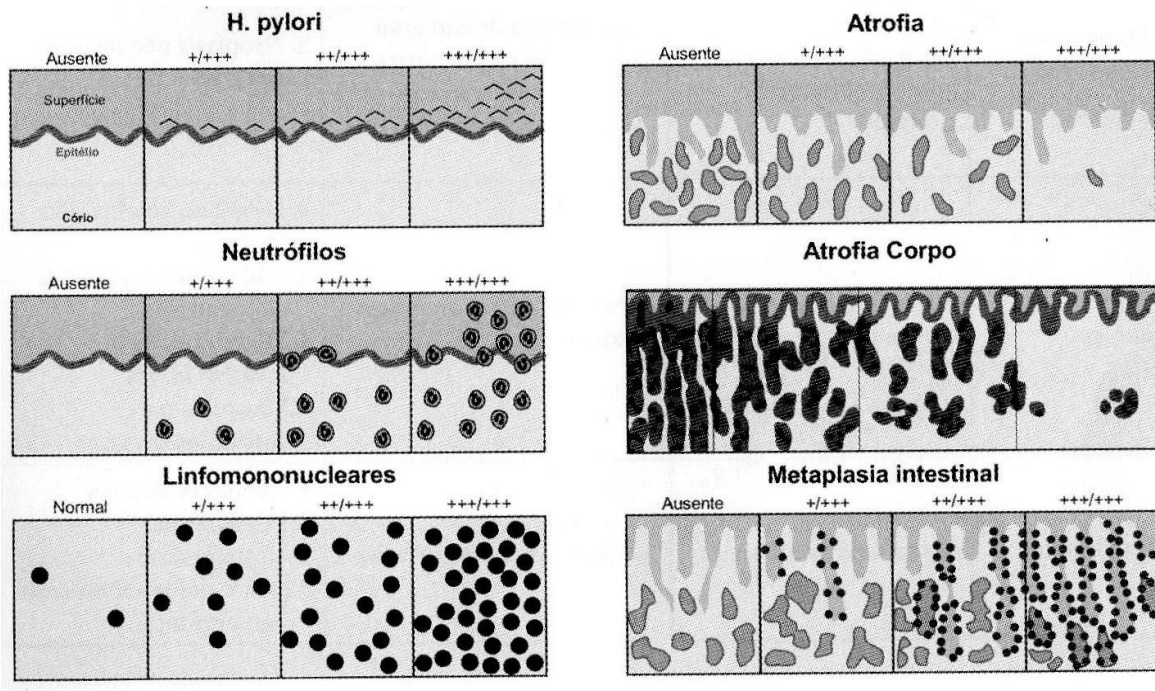


Figura 10 - Escala analógica visual proposta pela reunião de Houston de 1994 para classificação/graduação de gastrites (BACCHI et al., 2005)

a) Ausência de gastrite - nenhuma alteração do epitélio superficial ou glandular, com raros mononucleares na lâmina própria (grau 0);

b) Intensidade da gastrite com base na análise semi-quantitativa de mononucleares na lâmina própria e/ou no epitélio superficial ou glandular, graduada em leve (grau I), moderada (grau II) ou intensa (grau III); (Figura 11)

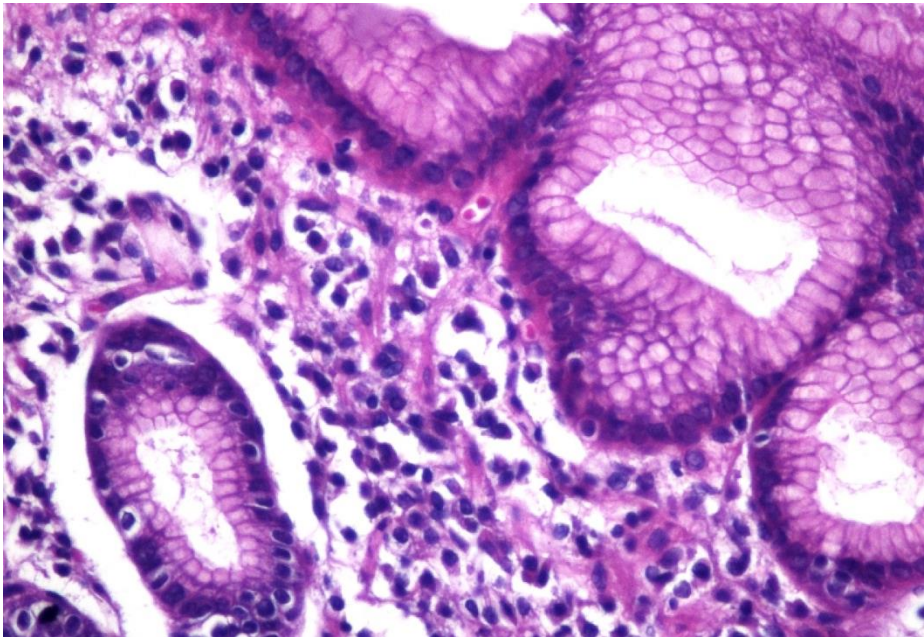


Figura 11 - Gastrite crônica sem atividade inflamatória: infiltrado linfoplasmocitário sem polimorfonucleares (HE - 400x)

c) Intensidade da atividade inflamatória com base na presença de polimorfonucleares na lâmina própria e/ou no epitélio superficial ou glandular, graduada em leve (grau I), moderada (grau II) ou intensa (grau III) (Figuras 12 e 13);

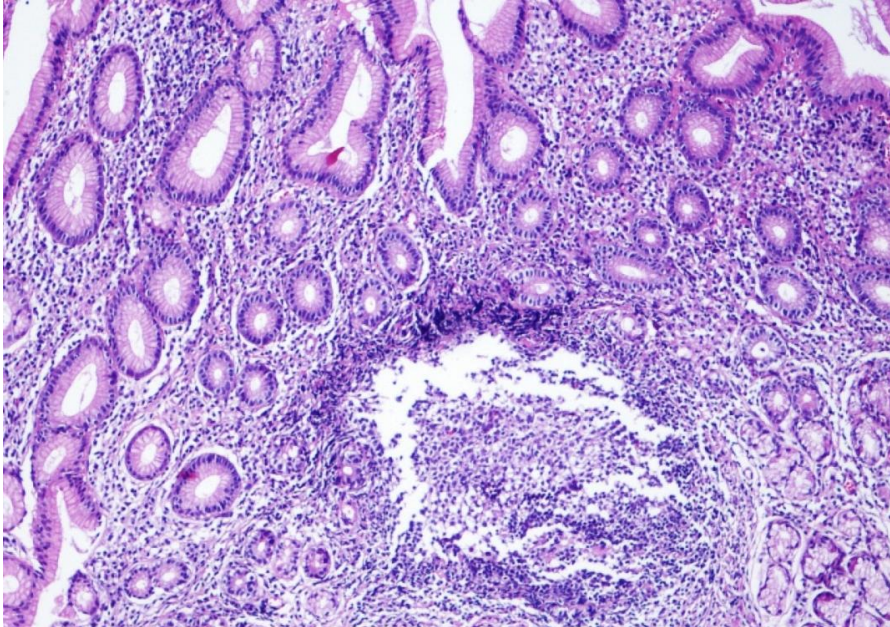


Figura 12- Gastrite crônica intensa; presença de folículo linfóide (HE - 40x)

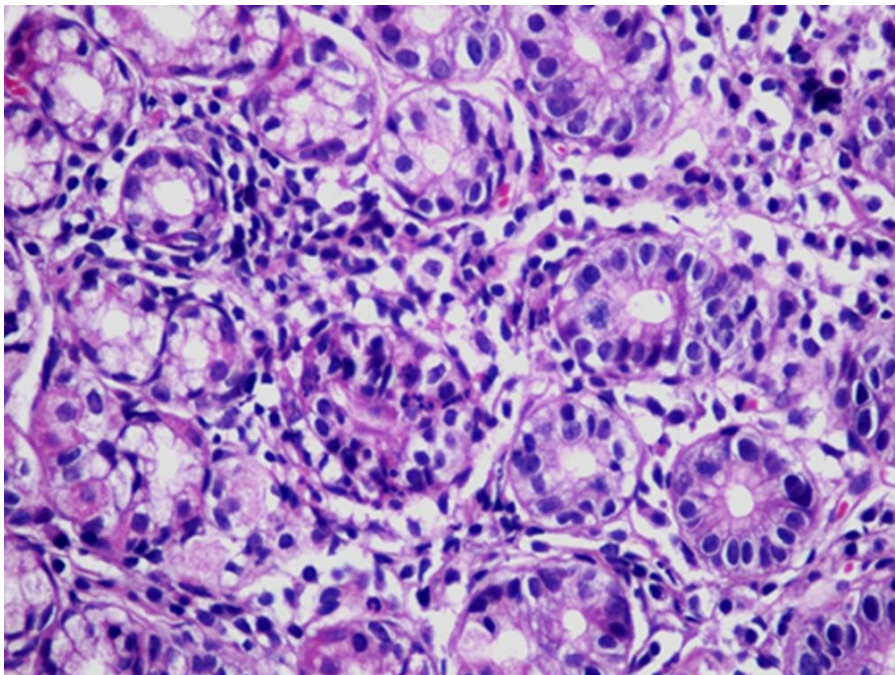


Figura 13 Foco com atividade inflamatória: neutrófilos permeando o epitélio foveolar (HE - 400x)

d) Presença de atrofia gástrica de acordo com a diminuição do número de corpos glandulares, graduada em leve (grau I), moderada (grau II), intensa (grau III);

e) Presença de metaplasia intestinal (Figura 14) de acordo com a presença de epitélio com características morfológicas do epitélio intestinal, classificada em completa (tipo I) ou incompleta (tipos II ou III), de acordo com a presença ou não de enterócitos absorventes e, a seguir graduada, segundo a extensão em graus I, II ou III (DIXON et al, 1996).

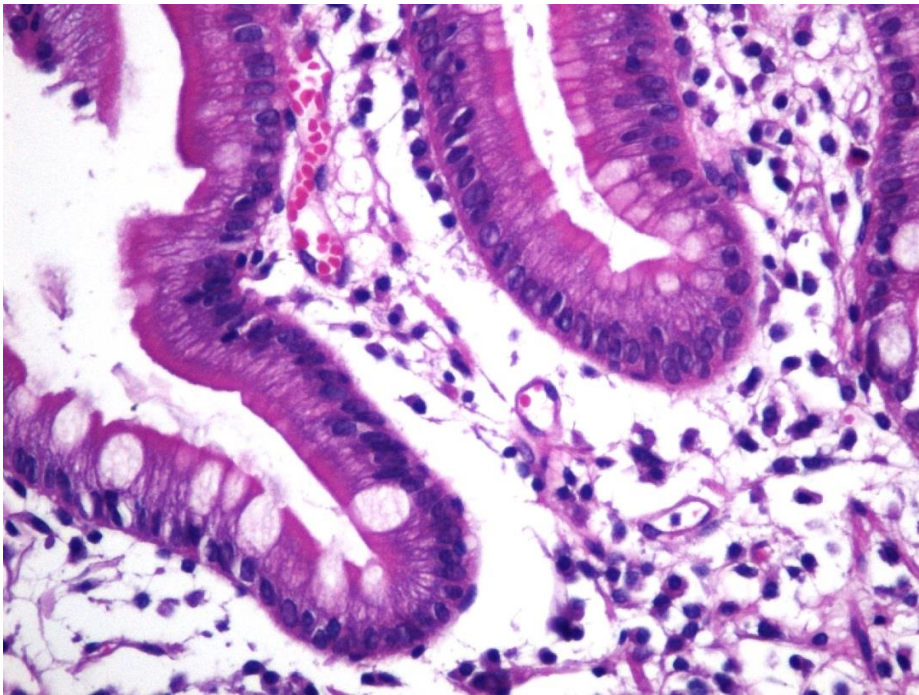


Figura 14 - Gastrite com atrofia glandular discreta (grau I ou focal) substituída por metaplasia intestinal completa (células caliciformes e enterócitos absorventes) sem displasia (HE – 400x)

4.6 Diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*

Foram utilizados diferentes métodos de diagnóstico e comprovação da infecção do *H. pylori* pelo fato da existência de casos de falsos negativos devido a vários fatores como escassez de bactérias e/ou uso prévio de bloqueadores H⁺.

4.6.1 Teste rápido da urease

O teste rápido da urease é o método mais simples, menos dispendioso e que fornece resultado dentro de minutos e até 2 horas, dependendo da quantidade de bactérias presentes na mucosa.

Este teste é baseado na principal característica bioquímica da bactéria, que é a produção da enzima urease, que hidrolisa a ureia em gás carbônico e amônia. Desta forma, um fragmento de biópsia da mucosa do estômago é colocado em um meio contendo ureia e um indicador de pH. Caso a urease esteja presente, a ureia é convertida em amônia o que gera um aumento do pH e conseqüentemente uma mudança na coloração do meio, passando da cor âmbar para rósea (Figura 15).

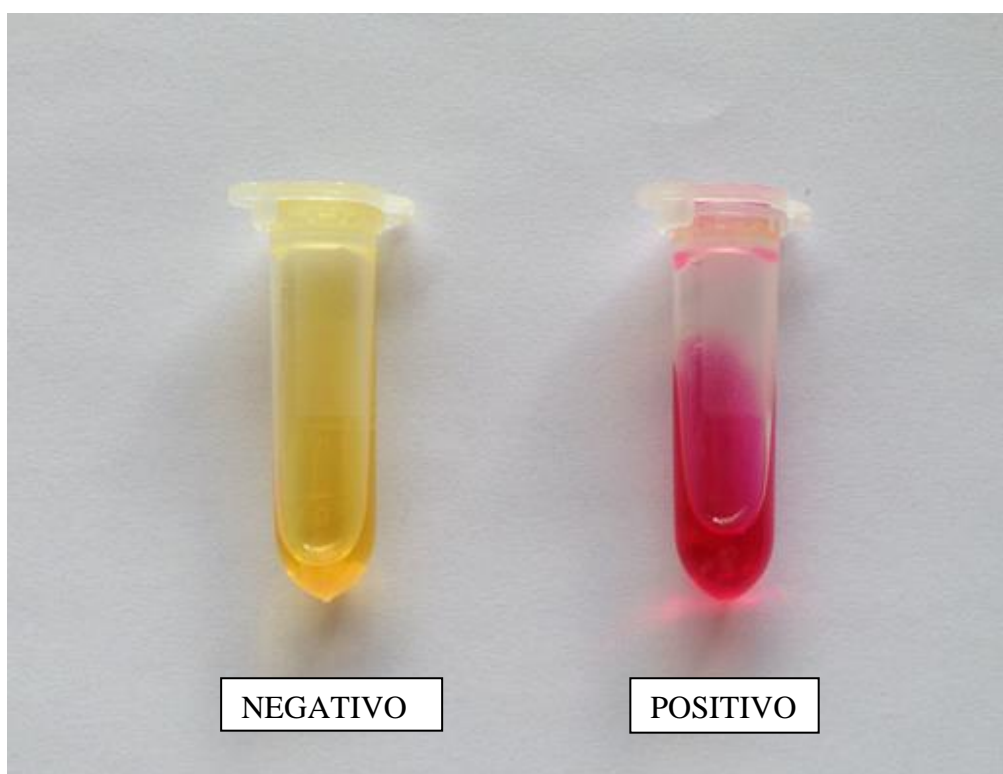


Figura 15 - Resultado do teste da urease

Falsos negativos podem ser obtidos com este teste em razão da distribuição irregular da bactéria na mucosa gástrica, escassez da bactéria, devido ao uso recente de antimicrobianos ou inibidor de bomba protônica e até mesmo falsos positivos, se outros patógenos produtores de urease estiverem presentes na amostra coletada (BITTENCOURT et al., 2006).

Para esta pesquisa foi utilizado o kit “UREASE-*H. pylori*” do laboratório RNA com os seguintes dados: Lote 321, Fabricação. 09/07/2013 e Validade 09/01/2014 (Figura 16).

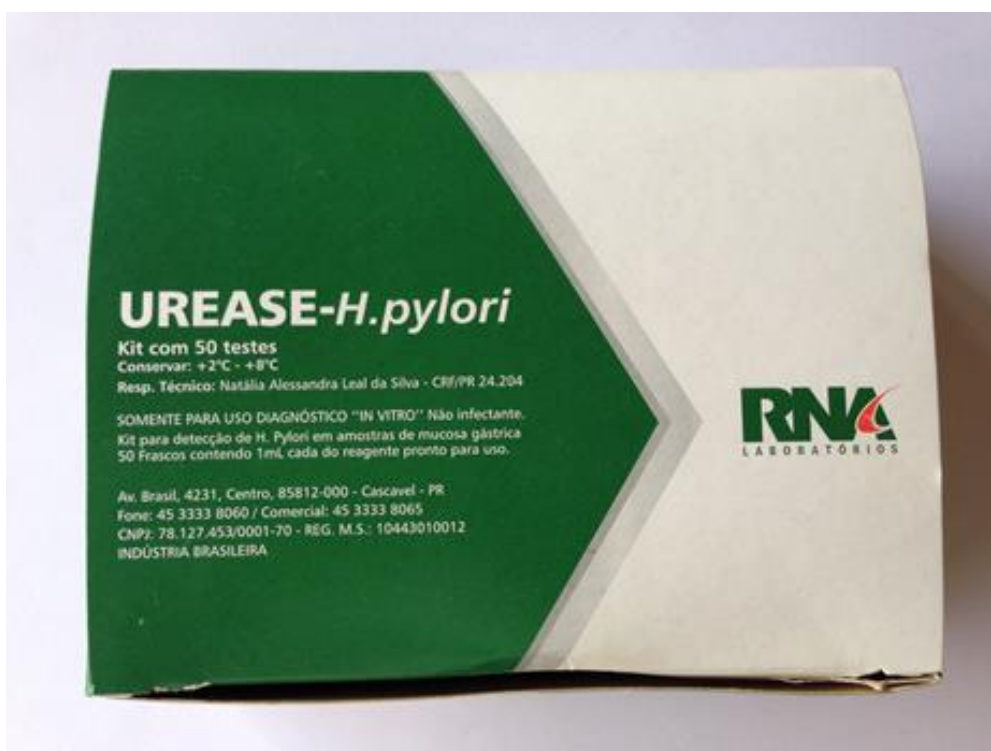


Figura 16 - Kit teste da urease - RNA laboratórios

4.6.2 Pesquisa de *H. pylori* no exame anatomopatológico

Após a coleta por biópsia, os fragmentos gástricos foram colocados em formol tamponado a 4% e enviados ao Serviço de Patologia Cirúrgica do Hospital de Clínicas da UFTM e para outros laboratórios de escolha do paciente quando os mesmos eram procedentes de clínica privada, para serem processados.

Os fragmentos fixados em formol foram desidratados em álcool e xilol e a seguir incluídos em parafina. Cortes de 5µm de espessura foram obtidos e corados pelo método Warthin Starry à base de prata para a pesquisa de *H. pylori* (DIXON et al., 1996).

A quantificação da densidade bacilar foi feita baseando-se em uma graduação de acordo com a quantidade de bacilos observados e assim classificando-se os achados em ausentes, positivo escasso (+/+++), moderado (++/+++) e intenso (+++/+++) (Figura 17).

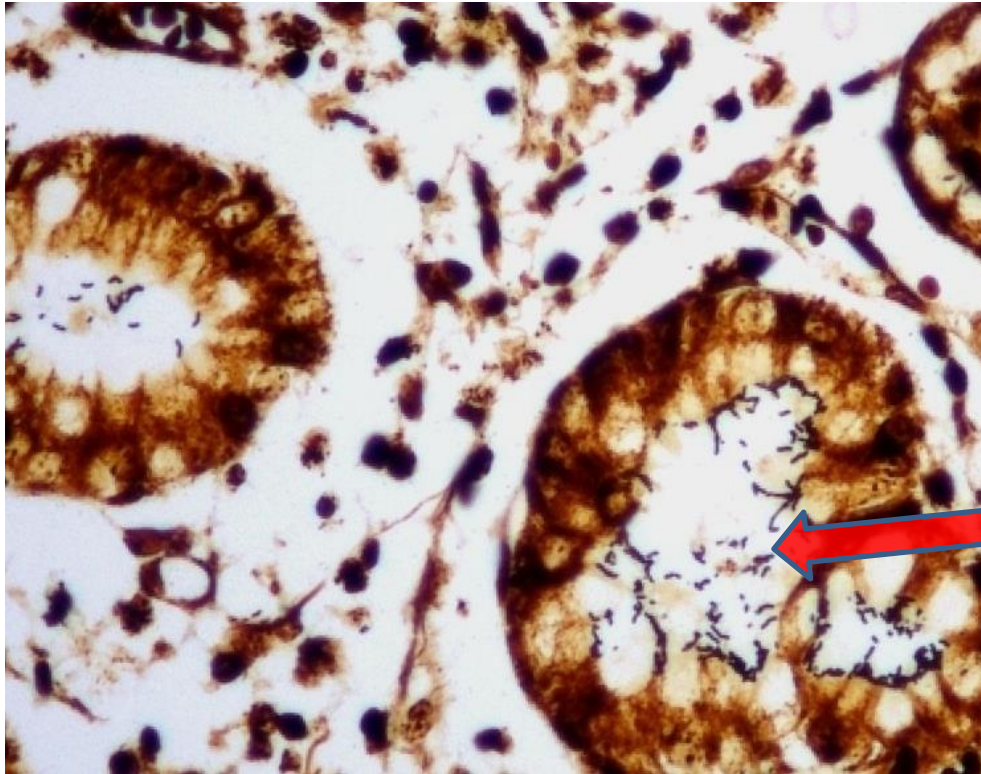


Figura 17 - Numerosos bacilos compatíveis com *H. pylori* no interior de foveolas (Warthin Starry – 1000x). Seta na cor vermelha

4.6.3 Extração do DNA do *H. pylori*

A extração do DNA foi realizada a partir das amostras de tecido colhida por biópsia da região do antro gástrico utilizando-se o kit “QIAamp DNA miniKit” (QIAGEN GmbH, Hilden, Alemanha) de acordo com as especificações do fabricante. Resumidamente, foi adicionado 20µl de solução de proteinase K (20 mg/ml) em tubos contendo o fragmento de mucosa gástrica e homogeneizado em vórtex. A essa solução, foram acrescentados 200µl do tampão de lise (Buffer AL) fornecido pelo fabricante, homogeneizado em vórtex, centrifugado e incubado a 56°C por 10min. A seguir, 200µl de etanol foram adicionados e essa mistura colocada na coluna fornecida pelo kit QIAamp e centrifugada a 6000 giros por 1min. A coluna foi colocada em outro microtubo coletor de 2ml, e o filtrado do tubo anterior descartado. O material da coluna foi lavado duas vezes (250µl cada) com o primeiro tampão

(Buffer AW1) e duas com o segundo tampão de lavagem (Buffer AW2) fornecida pelo kit. Finalmente, o DNA foi eluído com 100µl de tampão AE fornecido pelo kit. A extração do DNA foi realizada a partir de uma amostra de biópsia gástrica de acordo com as recomendações do fabricante.

A presença do DNA do *H. pylori* foi detectada a partir da amplificação do gene que codifica o 16S *rRNA* por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando *primers* específicos descritos por RILLEY *et al.* (1996). As amostras de tecido que apresentaram um fragmento de 364pb foram consideradas *H. pylori* positivas e foram posteriormente incluídas na análise da presença do gene *cagA*.

Inicialmente, todos os pacientes incluídos no estudo foram submetidos à detecção do gene 16S *rRNA* conforme descrito acima, para a detecção por *H. pylori*.

A partir disto, os pacientes confirmados como *H. pylori* positivos foram então submetidos à pesquisa do gene *cagA* e dos sítios de fosforilação CagA EPIYA.

4.7 Amplificação do gene *cagA* e da região 3' variável do gene *cagA*

O fragmento de 340pb do gene *cagA* foi amplificado com *primers* descritos por KELLY *et al.* (1994). Todas as amostras *cagA* positivas foram submetidas à amplificação da região 3' variável do gene *cagA* (que contém as sequências EPIYA) utilizando os *primers* descritos por YAMAOKA *et al.* (1996). A reação gerou produtos de 500pb a 850pb de acordo com o número de repetições de EPIYA-C. Os *primers* utilizados estão descritos na Tabela 1.

O termociclador GeneAmp PCR System 9700® (Applied Biosystems®, Foster City, CA) foi utilizado para amplificação dos genes. Os produtos obtidos foram corados com brometo de etídeo e visualizados em gel de agarose 1,5% em um transluminador de luz ultravioleta.

Tabela 1 – *Primers* utilizados na PCR para detecção de genes do *H. pylori*

Gene	Sequência do primer (5' to 3')
16S <i>rRNA</i>	H276F: TATGACGGGTATCCGGC
	H676R: ATTCCACCTACCTCTCCCA
<i>cagA</i>	CAGF: GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG
	CAGR: CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA
<i>cagA-Epiya</i>	CAGF1: ACCCTAGTCGGTAATGGGTTA
	CAGR1: GTAATTGTVTAGTTTCGC

Análise Estatística

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando o *software* IBM SPSS Statistics®, v. 21, (IBM Corporation®, USA) A associação de cada variável com a presença da infecção do *H. pylori* e seus fatores de virulência foram verificados pelo teste do Qui-quadrado. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando a rejeição da hipótese de nulidade foi menor que 5% ($p < 0.05$).

Resultados

6. RESULTADOS

6.1 Características clínicas da amostra (N=126)

Os 126 pacientes do presente estudo tinham idade entre 18 e 87 anos, com média de $44,9 \pm 15,5$ anos, sendo que 84 (66,7%) pacientes eram do sexo feminino e 42 (33,3%) pacientes eram do sexo masculino.

A média do IMC da amostra foi de $26,8 \pm 6,1$ kg/m². A cor de pele predominante foi a branca em 106 (84,1%) dos pacientes. Cento e quatro (82,5%) pacientes negavam o tabagismo e 22 (17,5 %) eram fumantes.

6.2 Características clínicas da amostra em relação à positividade do *H. pylori* no antro e/ou corpo gástrico pesquisado através do exame anatomopatológico (EAP) (N=126).

O *H. pylori* esteve presente no antro gástrico através do EAP em 42 (33,3%) dos 126 pacientes estudados e já no corpo gástrico o mesmo foi positivo no EAP em 43 (34,1%) pacientes.

Dentre os 126 pacientes que foram submetidos ao questionário clínico (Tabela 2), não foi encontrada diferença significativa em relação aos dados clínicos com a presença do *H. pylori* no antro gástrico diagnosticado pelo EAP nos referidos pacientes.

Baseando-se somente na anamnese, e em situações clínicas frequentes como dor epigástrica, pirose, tabagismo, etilismo, obesidade, e diabetes dentre outras, não foi obtido uma prévia para o diagnóstico da bactéria. A dor epigástrica foi o sintoma mais frequente acometendo 105 (83,3%) pacientes, seguida pelo sintoma pirose que se manifestou em 86 (68,3%) pacientes. ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Comparando os pacientes do sexo masculino e do sexo feminino com a presença do *H. pylori* no antro gástrico, houve uma maior prevalência da bactéria nos pacientes do sexo feminino, porém sem significância estatística. Dos 84 (66,7%) pacientes do sexo feminino, 28 (22,2%) apresentaram positividade para a presença da bactéria no antro gástrico enquanto que

dos 42 (33,3%) dos pacientes do sexo masculino, 14 (11,1%) pacientes apresentaram positividade para a mesma no antro gástrico (Tabela 2).

Não houve diferença estatística significativa quando estudamos os pacientes que haviam feito tratamento anterior para DRGE. Dos 126 pacientes estudados, 48 (38,1%) pacientes haviam feito o tratamento para a DRGE e dentre eles 16 (12,7%) pacientes tiveram a bactéria presente no antro gástrico e 32 (25,4%) não tiveram a positividade para o *H. pylori*.

Tabela 2 - Comparação de dados clínicos com a presença do *H. pylori* pesquisado no antro gástrico através do EAP (N=126)

Dados clínicos	Número	<i>H. pylori</i> +	<i>H. pylori</i> -
Sexo masculino	42 (33,3%)	14 (11,1%)	28 (22,2%)
Sexo feminino	84 (66,7%)	28 (22,2%)	56 (44,4%)
Dor epigástrica	105 (83,3%)	35 (27,8%)	70 (55,6%)
Náuseas	56 (44,4%)	21 (16,7%)	35 (27,8%)
Pirose	86 (68,3%)	27 (21,4%)	59 (46,8%)
Disfagia	30 (23,8%)	15 (11,9%)	15 (11,9%)
Regurgitação	42 (33,3%)	17 (13,5%)	25 (19,9%)
Tabagismo	22 (17,5%)	6 (4,8%)	16 (12,7%)
Etilismo	50 (39,7%)	20 (15,9%)	30 (23,8%)
Obesidade	27 (21,4%)	13 (10,3%)	14 (11,1%)
Diabetes	12 (9,5%)	5 (4,0%)	7 (5,6%)
Tratamento anterior DRGE	48 (38,1%)	16 (12,7%)	32 (25,4%)
Tratamento anterior gastrite	37 (29,4%)	8 (6,3%)	29 (23,0%)
Tratamento anterior <i>H. pylori</i>	19 (15,1%)	3 (2,4%)	16 (12,7%)

p<0,05

Entre os pacientes em uso de IBP em relação à presença do *H. pylori* no corpo gástrico, o uso de IBP mostrou uma diminuição significativa na positividade para o *H. pylori* nesta região do estômago. Dos 51 (40,5%) pacientes que estavam em uso de IBP, apenas 13 (10,3%) pacientes tiveram a presença da bactéria no corpo gástrico enquanto que 38 (30,2%) pacientes não apresentaram positividade para a mesma no corpo gástrico (Tabela 3).

Tabela 3 – Em uso de IBP e positividade do *H. pylori* no corpo gástrico

		<i>H. pylori</i> presente no corpo gástrico		Total
		Ausente	Presente	
Em uso de IBP	Não	45 35,7%	30 23,8%	75 59,5%
	Sim	38 30,2%	13 10,3%	51 40,5%
Total		83 65,9%	43 34,1%	126 100,0%

p<0,05

Entre os pacientes em uso de IBP em relação à presença do *H. pylori* no antro gástrico, o uso de IBP mostrou uma diminuição significativa na positividade para o *H. pylori* nesta região do estômago. Dos 51 (40,5%) pacientes que estavam em uso de IBP, apenas 10 (7,9%) pacientes tiveram a presença da bactéria no antro gástrico enquanto que 41 (32,5%) pacientes não apresentaram positividade para a mesma no antro gástrico (Tabela 4).

Tabela 4 – Em uso de IBP e positividade do *H. pylori* no antro gástrico

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)		Total
		Ausente	Presente	
Em uso de IBP	Não	43 34,1%	32 25,4%	75 59,5%
	Sim	41 32,5%	10 7,9%	51 40,5%
Total		84 66,7%	42 33,3%	126 100,0%

p<0,05

6.3 Características endoscópicas da amostra em relação à positividade do *H. pylori* no antro e/ou corpo gástrico pesquisado através do EAP (N=126).

O teste da urease realizado em fragmentos de antro gástrico colhidos durante a EDA mostrou uma positividade em 24 (19,0%) pacientes, a pesquisa da bactéria no antro através do EAP foi positiva em 42 (33,3%) pacientes e a positividade do *H. pylori* no corpo gástrico, também pelo EAP foi de 43 (34,1%) pacientes.

Considerando-se a normalidade do esôfago e do duodeno como dados da EDA não houve diferença estatística significativa para a presença do *H. pylori* nestes achados ($p>0,05$) Dos 61 (48,4%) pacientes com esôfago normal, 24 (19,0%) pacientes tinham a presença do *H. pylori* no antro gástrico e 37 (29,4%) pacientes não tinham. Os pacientes que apresentaram duodeno normal foram 112 (88,9%) e destes 37 (29,4%) pacientes tinham o *H. pylori* presente no antro gástrico e 75 (59,5%) pacientes não tinham em esta positividade.

A EDA mostrou alterações no corpo gástrico de 19 (15,1%) pacientes, porém no antro gástrico dos mesmos pacientes estudados, estas alterações endoscópicas foram mais frequentemente encontradas em 50 (39,7%) pacientes.

A ausência da esofagite de refluxo diagnosticada durante o exame de EDA apresentou diferença significativa diante da ausência do *H. pylori* no antro gástrico ($p<0,05$), pois podemos observar que dos 97 (77,0%) pacientes que não apresentaram esofagite de refluxo pela EDA, 59 (46,8%) pacientes não tiveram positividade do *H. pylori* no antro gástrico. Também verificamos que 29 (23%) pacientes que tiveram esofagite de refluxo um total de 25 (19,8%) pacientes não tiveram a presença da bactéria no antro gástrico. (Tabela 5).

Tabela 5 – Esofagite de refluxo (EDA) pela classificação de Los Angeles (LA) e positividade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)		Total
		Ausente	Presente	
Esofagite de refluxo (LA)	Grau A	18 14,3%	3 2,4%	21 16,7%
	Grau B	7 5,6%	1 0,8%	8 6,3%
	Ausente	59 46,8%	38 30,2%	97 77,0%
Total		84 66,7%	42 33,3%	126 100,0%

p<0,05

A tabela 6 mostra que os pacientes que apresentaram corpo gástrico normal na EDA foram 107 (84,9%) e que dentre eles 78 (61,9%) pacientes não tiveram a positividade da bactéria no antro gástrico pelo EAP. Resultados estatisticamente significativos (p<0.05).

Tabela 6 – Corpo gástrico normal e positividade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)		Total
		Ausente	Presente	
Corpo gástrico normal	Não	6 4,8%	13 10,3%	19 15,1%
	Sim	78 61,9%	29 23,0%	107 84,9%
Total		84 66,7%	42 33,3%	126 100,0%

p<0,05

Dos 126 pacientes estudados, 111 (88,1%) pacientes apresentaram um corpo gástrico normal e dentre eles 81 (64,3%) pacientes não tiveram o *H. pylori* presente no antro gástrico. Já entre os 15 (11,9%) pacientes que apresentaram gastrite, 12 (9,5%) pacientes tiveram a bactéria diagnosticada no antro do estômago. Resultados com diferença estatística significativa ($p < 0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7 – Gastrite de corpo gástrico e positividade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)		Total
		Ausente	Presente	
Gastrite de corpo gástrico- classificação	Enantematosa	3 2,4%	9 7,1%	12 9,5%
	Erosiva plana	0 0,0%	3 2,4%	3 2,4%
	Ausente	81 64,3%	30 23,8%	111 88,1%
Total		84 66,7%	42 33,3%	126 100,0%

$p < 0.05$

A tabela 8 mostra que os pacientes que apresentaram antro gástrico normal na EDA foram 50 (39,7%) e que dentre eles 40 (31,7%) pacientes não tiveram a positividade da bactéria no antro gástrico pelo EAP. Resultados estatisticamente significativos ($p < 0.05$).

Tabela 8 – Antro gástrico normal e positividade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)		Total
		Ausente	Presente	
Antro gástrico normal	Não	44 34,9%	32 25,4%	76 60,3%
	Sim	40 31,7%	10 7,9%	50 39,7%
Total		84 66,7%	42 33,3%	126 100,0%

$p < 0,05$

Dentre os 126 pacientes estudados, 54 (42,9%) pacientes apresentaram um antro gástrico normal e dentre eles 42 (33,3%) pacientes não tiveram o *H. pylori* presente no antro gástrico. Já entre os 72 (57,14%) pacientes que apresentaram gastrite, 30 (23,8%) pacientes tiveram a bactéria diagnosticada no antro do estômago. Resultados com diferença estatística significativa ($p < 0,05$) (Tabela 9)..

Tabela 9 – Classificação da gastrite de antro gástrico e positividade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)		Total
		Ausente	Presente	
Gastrite de antro gástrico- classificação	Enantematosa	26 20,6%	13 10,3%	39 31,0%
	Erosiva elevada	4 3,2%	7 5,6%	11 8,7%
	Erosiva plana	12 9,5%	8 6,3%	20 15,9%
	Nodular	0 0,0%	2 1,6%	2 1,6%
	Gastrite Ausente	42 33,3%	12 9,5%	54 42,9%
Total		84 66,7%	42 33,3%	126 100,0%

$p < 0,05$

O gráfico 1 mostra a frequência da densidade do *H. pylori* no antro gástrico. Podemos observar que densidade intensa da bactéria foi a mais frequente atingindo 17 (13,5%) pacientes, seguida da densidade moderada com 13 (10,3%) pacientes e a escassa com 11 (8,7%) pacientes.

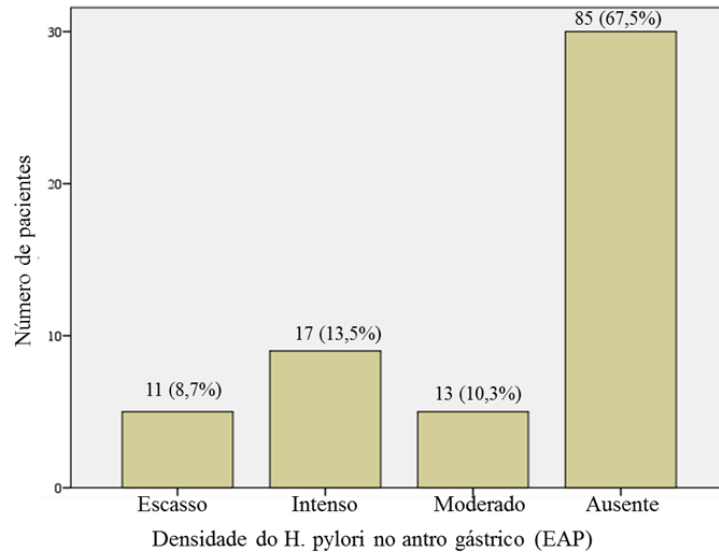


Gráfico 1 – Frequência da densidade do *H. pylori* no antro gástrico

A Tabela 10 mostra que houve diferença estatística significativa entre os dados obtidos com o teste da urease no antro gástrico com a densidade do *H. pylori* no antro gástrico. Vinte e quatro (19,0%) pacientes com teste de urease positivo tiveram a positividade com a presença do *H. pylori* no antro gástrico ($p < 0,05$).

Tabela 10 - Comparação de positividade do teste da urease realizado no antro gástrico

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)				Total
		Escasso	Intenso	Moderado	Ausente	
Teste da urease (antro gástrico)	Negativo	6 4,8%	8 6,3%	8 6,3%	80 63,5%	102 81,0%
	Positivo	5 4,0%	9 7,1%	5 4,0%	5 4,0%	24 19,0%
Total		11 8,7%	17 13,5%	13 10,3%	85 67,5%	126 100,0%

$p < 0,05$

6.4 Características da amostra no EAP em relação à positividade do *H. pylori* antro e/ou corpo gástricos (N=126).

A positividade do *H. pylori* no corpo gástrico através do EAP foi de 43 (34,1%) pacientes e o *H. pylori* foi positivo no antro gástrico também pesquisado através do EAP em 42 (33,3%) pacientes. Somente um (0,07%) paciente foi positivo no corpo gástrico e não se mostrou positivo no antro gástrico ($p < 0,05$).

6.4.1 Esôfago (EAP)

Oitenta e três (65,9%) pacientes tiveram o esôfago dado como normal nas biópsias feitas durante o exame de endoscopia digestiva alta. Destes pacientes, 29 (23,0%) apresentaram a pesquisa do *H. pylori* positiva no antro gástrico através EAP e 54 (42,9%) pacientes tiveram negativa a presença da bactéria, o que não mostrou significância estatística ($p > 0,05$) a relação do *H. pylori* no antro gástrico e a normalidade do esôfago.

O mesmo aconteceu com os pacientes que tiveram diagnóstico anatomopatológico de esofagite de refluxo, isto é: 28 (22,2%) pacientes com esofagite de refluxo sendo 6 (4,8%) pacientes com *H. pylori* presente no antro gástrico e 22 (17,5%) com a bactéria ausente. Não houve significância estatística ($p > 0,05$).

6.4.2 Corpo gástrico (EAP)

Na tabela 11 podemos observar que de todos os 59 (46,8%) pacientes que apresentaram um corpo do estômago normal ao EAP, somente 1 (0,08%) paciente teve a positividade para o *H. pylori* no corpo gástrico, enquanto que 67 (53,2%) pacientes tiveram alterações histopatológicas no corpo do estômago e que dentre eles, 41 (32,5%) pacientes apresentaram a positividade para a bactéria.

Ainda na Tabela 11, observa-se que a densidade de infecção mais encontrada do *H. pylori* em relação às alterações histológicas do corpo gástrico foi de forma “moderada”, atingindo 24 (19,0%) pacientes dos 67 (53,2%) pacientes.

Todos os dados observados na referida Tabela 11 tiveram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Tabela 11 – Corpo gástrico normal (EAP) e a densidade do *H. pylori* no corpo gástrico (pesquisado no EAP)

		<i>H. pylori</i> (corpo gástrico)				Total
		Escasso	Intenso	Moderado	Ausente	
Corpo gástrico normal (EAP)	Não	11 8,7%	6 4,8%	24 19,0%	26 20,0%	67 53,2%
	Sim	1 0,08%	0 0,0%	0 0,0%	58 46,0%	59 46,8%
Total		12 9,5%	6 4,8%	24 19,0%	84 66,7%	126 100,0%

p<0,05

Na tabela 12, podemos observar que 29 (59,2%) dos pacientes não apresentaram gastrite ativa no corpo gástrico e dentre eles somente 1 (2,0%) apresentou a infecção pelo *H. pylori* (p<0,05). Daí a estreita relação entre ausência de gastrite ativa e ausência da bactéria.

Os pacientes que tiveram gastrite ativa presente foram 20 (40,8%) e o tipo de atividade mais encontrada foi a discreta com 14 (28,6%) pacientes e a densidade de infecção pelo *H. pylori* predominante foi a moderada com 7 (14,3%) pacientes infectados (p<0,05)

Tabela 12 - Gastrite ativa no corpo gástrico (Classificação no EAP) e a densidade do *H. pylori* no corpo gástrico pesquisado (EAP)

		<i>H. pylori</i> (corpo gástrico)				Total
		Escasso	Intenso	Moderado	Ausente	
Gastrite ativa no corpo gástrico	Atividade discreta	7 5,6%	3 2,4%	14 11,1%	2 1,6%	26 20,6%
	Atividade intensa	0 0,0%	1 0,8%	0 0,0%	0 0,0%	1 0,8%
	Atividade moderada	4 3,2%	2 1,6%	8 6,3%	3 2,4%	17 13,5%
	Atividade ausente	1 0,8%	0 0,0%	2 1,6%	79 62,7%	82 65,1%
Total		12 9,5%	6 4,8%	24 19,0%	84 66,7%	126 100,0%

p<0,05

Na tabela 13, podemos observar que 62 (49,29%) pacientes não apresentaram gastrite crônica no corpo gástrico e dentre eles nenhum apresentou a infecção pelo *H. pylori* ($p < 0,05$).

Os pacientes que tiveram gastrite crônica presente foram 64 (50,71%) e o tipo de atividade mais encontrada foi a discreta com 48 (38,09%) pacientes, seguida pela moderada com 14 (11,11%) e a densidade de infecção pelo *H. pylori* predominante foi a moderada com 19 (15,07%) pacientes infectados ($p < 0,05$).

Tabela 13 - Gastrite crônica no corpo gástrico (Classificação no EAP) e a densidade do *H. pylori* no corpo gástrico pesquisado (EAP)

	<i>H. pylori</i> (corpo gástrico)				Total	
	Escasso	Intenso	Moderado	Ausente		
Gastrite crônica no corpo gástrico (EAP)	Crônica discreta	7 5,6%	4 3,2%	19 15,1%	18 14,3%	48 38,1%
	Crônica intensa	0 0,0%	0 0,0%	1 0,8%	1 0,8%	2 1,6%
	Crônica moderada	5 4,0%	2 1,6%	4 3,2%	3 2,4%	14 11,1%
	Crônica ausente	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	62 49,2%	62 49,2%
	Total	12 9,5%	6 4,8%	24 19,0%	84 66,7%	126 100,0%

$p < 0,05$

6.4.3 Antro gástrico (EAP)

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre antro gástrico normal ao EAP em relação à presença do *H. pylori* no antro gástrico, uma vez que, entre os 27 (21,4%) pacientes com antro gástrico normal no EAP nenhum evidenciou a presença do *H. pylori* no antro gástrico, enquanto que dos 99 (78,6%) pacientes com alterações histológicas no antro gástrico, 42 (33,3%) pacientes apresentaram positividade para a presença da bactéria no antro gástrico ($p < 0,05$) (Tabela 14).

Tabela 14 - Antro gástrico normal (EAP) e positividade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)		Total
		Ausente	Presente	
Antro gástrico normal	Não	57 45,2%	42 33,3%	99 78,6%
	Sim	27 21,4%	0 0,0%	27 21,4%
Total		84 66,7%	42 33,3%	126 100,0%

$p < 0,05$

Pode-se observar que 80 (63,5%) pacientes não apresentaram gastrite ativa no antro gástrico e dentre eles somente 4 (3,2%) apresentaram a infecção pelo *H. pylori* ($p<0,05$) (Tabela 15).

Quarenta e seis (36,5%) pacientes tiveram gastrite ativa no antro gástrico e o tipo de atividade mais encontrada foi a com 19 (15,07%) pacientes, seguida pela intensa com 16 (12,69%) e por último a moderada em 11 (8,73%) pacientes. A densidade predominante de infecção pelo *H. pylori* foi a intensa em 17 (13,49%) pacientes, seguida da moderada com 13 (10,31%) pacientes e a escassa em 11 (8,73%) pacientes infectados ($p<0,05$).

Tabela 15 - Gastrite ativa no antro gástrico (Classificação no EAP) e densidade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)				Total
		Escasso	Intenso	Moderado	Ausente	
Gastrite ativa no antro gástrico	Atividade discreta	6 4,8%	2 1,6%	2 1,6%	9 7,1%	19 15,1%
	Atividade intensa	1 0,8%	11 8,7%	4 3,2%	0 0,0%	16 12,7%
	Atividade moderada	2 1,6%	4 3,2%	5 4,0%	0 0,0%	11 8,7%
	Atividade ausente	2 1,6%	0 0,0%	2 1,6%	76 60,3%	80 63,5%
Total		11 8,7%	17 13,5%	13 10,3%	85 67,5%	126 100,0%

$p<0,05$

Trinta e quatro (27,0%) pacientes não apresentaram gastrite crônica no antro gástrico e dentre eles nenhum apresentou a infecção pelo *H. pylori* ($p<0,05$) (Tabela 16).

Dos 92 (73,01%) pacientes que tiveram gastrite crônica a mais encontrada foi de forma discreta com 50 (39,68%) pacientes, seguida pela moderada com 27 (21,42%) e depois a crônica intensa em 15 (11,9%) pacientes. A densidade predominante de infecção pelo *H. pylori* foi a intensa em 17 (13,5%) pacientes, seguida da moderada com 13 (10,3%) pacientes e a escassa em 11 (8,7%) pacientes infectados ($p<0,05$).

Tabela 16 - Gastrite crônica no antro gástrico (Classificação no EAP) e densidade do *H. pylori* no antro gástrico pesquisado através do EAP

		<i>H. pylori</i> (antro gástrico)				Total
		Escasso	Intenso	Moderado	Ausente	
Gastrite crônica no antro gástrico	Crônica discreta	4 3,2%	0 0,0%	4 3,2%	42 33,3%	50 39,7%
	Crônica intensa	3 2,4%	9 7,1%	3 2,4%	0 0,0%	15 11,9%
	Crônica moderada	4 3,2%	8 6,3%	6 4,8%	9 7,1%	27 21,4%
	Crônica ausente	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	34 27,0%	34 27,0%
Total		11 8,7%	17 13,5%	13 10,3%	85 67,5%	126 100,0%

$p<0,05$

6.5 Características da amostra no estudo da biologia molecular em relação à positividade do *H. pylori* (N = 49)

De forma randomizada foram selecionados dos 126 pacientes 49 (38,88%) pacientes para estudo da biologia molecular. Dentre estes 49 pacientes, 19 (38,77%) pacientes apresentaram positividade do *H. pylori* no antro gástrico diagnosticado através do gene 16S *rRNA* e destes 19 (38,77%) pacientes encontramos a presença do fator de virulência gene *cagA* em 11 (22,4%) pacientes.

Nas tabelas a seguir temos os resultados de alterações histopatológicas encontradas no antro gástrico comparativamente com estes fatores de virulência.

Já na tabela 17, podemos observar que 32 (65,3%) pacientes não apresentaram gastrite ativa no antro gástrico e dentre eles somente 1 (2,0%) apresentou a presença do gene *cagA* ($p < 0,05$).

Os pacientes que tiveram gastrite ativa no antro gástrico foram 17 (34,7%) e o tipo de atividade mais encontrada foi a moderada com 7 (14,3%) pacientes, seguida pela intensa com 6 (12,2%) pacientes e por último a gastrite ativa discreta com 4 (8,2%) pacientes. A presença do gene *cagA* do *H. pylori* foi encontrada em 11 (22,4%) pacientes ($p < 0,05$) (Tabela 17).

Tabela 17 – Gastrite ativa no antro gástrico (Classificação no EAP) e a presença do gene *cagA* do *H. pylori*

	gene <i>cagA</i>		Total	
	Negativo	Positivo		
Gastrite ativa no antro gástrico	Atividade discreta	4 8,2%	0 0,0%	4 8,2%
	Atividade intensa	0 0,0%	6 12,2%	6 12,2%
	Atividade moderada	3 6,1%	4 8,2%	7 14,3%
	Atividade ausente	31 63,3%	1 2,0%	32 65,3%
Total	38 77,6%	11 22,4%	49 100,0%	

$p < 0,05$

Na tabela 18, podemos observar que 16 (32,7%) pacientes não apresentaram gastrite crônica no antro gástrico e dentre eles nenhum apresentou a presença do gene *cagA* ($p<0,05$).

Os pacientes que tiveram gastrite crônica no antro gástrico foram 33 (67,3%) e o tipo de gastrite crônica mais encontrada foi a discreta com 18 (36,7%) pacientes, seguida pela moderada com 11 (22,4%) pacientes e por último a gastrite intensa com 4 (8,2%) pacientes. A presença do gene *cagA* do *H. pylori* foi encontrada em 11 (22,4%) pacientes ($p<0,05$) (Tabela 18).

Tabela 18 – Gastrite crônica no antro gástrico (Classificação no EAP) e a presença do gene *cagA* do *H. pylori*

	gene <i>cagA</i>		Total	
	Negativo	Positivo		
Gastrite crônica no antro gástrico	Crônica discreta	18 36,7%	0 0,0%	18 36,7%
	Crônica intensa	0 0,0%	4 8,2%	4 8,2%
	Crônica moderada	4 8,2%	7 14,3%	11 22,4%
	Crônica ausente	16 32,7%	0 0,0%	16 32,7%
	Total	38 77,6%	11 22,4%	49 100,0%

$p<0,05$

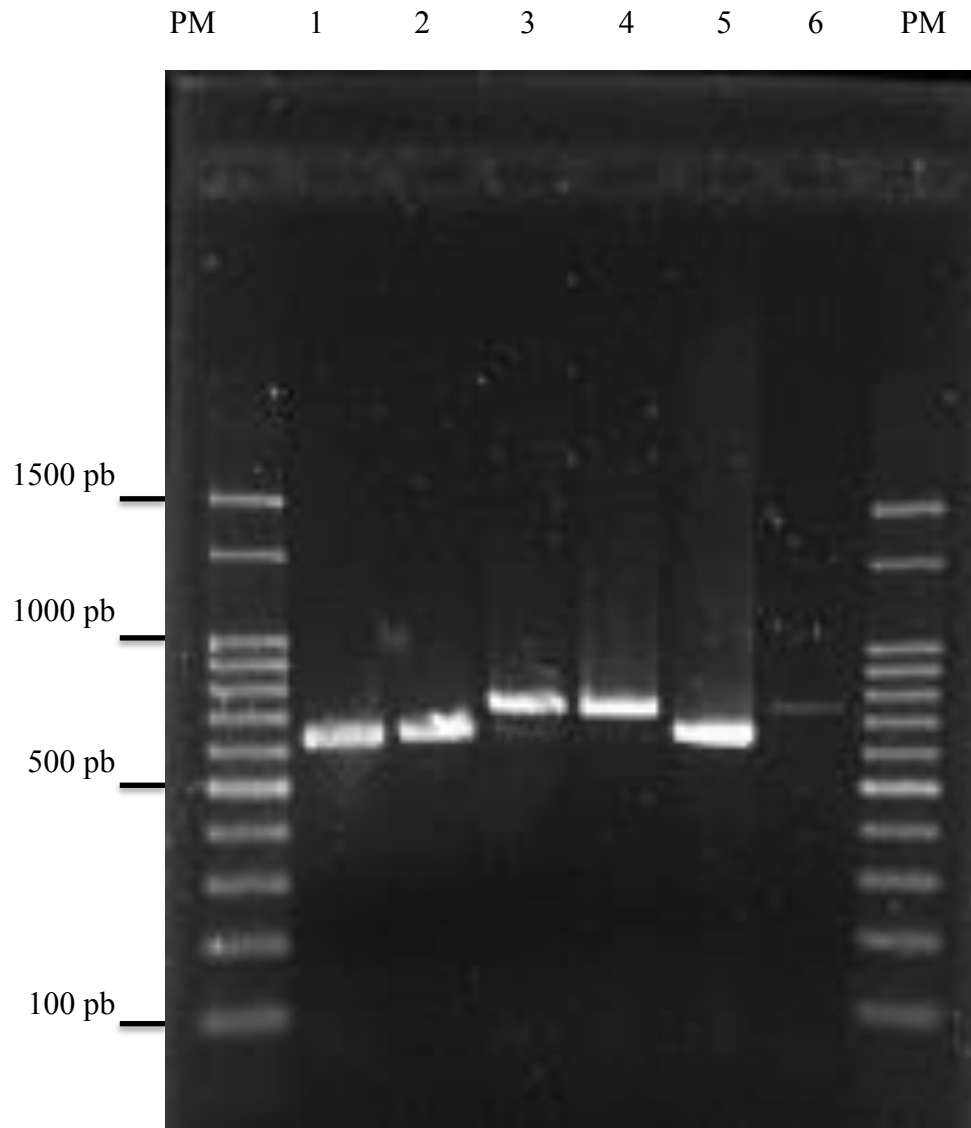


Figura 18 - .Eletroforese de amostras representativas dos diferentes sítios EPIYA da proteína CagA observados em pacientes *H. pylori*-positivos. PM: Marcador de peso molecular de 100 pares de bases; Colunas 1, 2 e 5: EPIYA-ABC; Coluna 3: EPIYA-ABC+ABCC; Coluna 4 e 6: EPIYA-ABCC.

O gráfico 2 nos mostra a distribuição dos sítios CagA EPIYA pesquisados no antro gástrico. Neste gráfico pode-se observar que o tipo CagA EPIYA ABC foi o mais frequente atingindo 5 (10,2%) pacientes, seguido pelos tipos CagA EPIYA AB, ABC+ABCC e ABCC com 2 (4,1%) pacientes uniformemente distribuídos para um tipo.

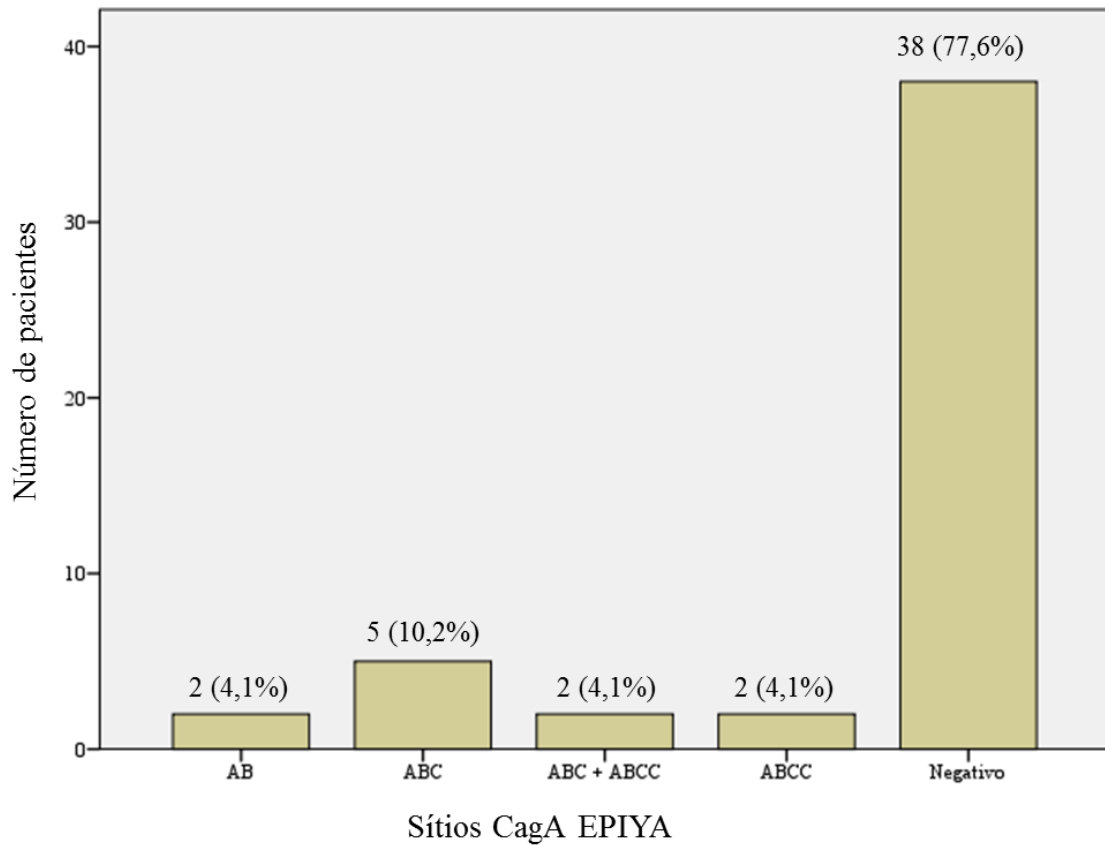


Gráfico 2 - Sítios CagA EPIYA pesquisados no antro gástrico

A tabela 19 nos mostra que 32 (65,37%) pacientes não apresentaram gastrite ativa no antro gástrico e dentre eles somente 1 (2,0%) apresentou a presença da CagA EPIYA ($p<0,05$).

Os pacientes que tiveram gastrite ativa no antro gástrico foram 17 (34,6%) e o tipo de gastrite ativa mais encontrado foi a moderada com 7 (14,3%) pacientes, seguida pela intensa com 6 (12,2%) e por último a gastrite discreta com 4 (8,2%) pacientes. A CagA EPIYA ABC do *H. pylori* foi a mais frequente e foi encontrada em 5 (10,2%) pacientes distribuídos 3 (6,1%) na gastrite ativa intensa 2 (4,1%) na gastrite ativa moderada. A CagA EPIYA AB manifestou-se em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa intensa e em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa moderada. O tipo CagA EPIYA ABC+ABCC também esteve presente em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa intensa e em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa moderada e o tipo CagA EPIYA ABCC distribuiu-se em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa intensa e em 1 (2,0%) paciente sem gastrite ativa. ($p<0,05$) (Tabela 19)

Tabela 19 - Relação do CagA EPIYA pesquisado no antro gástrico e gastrite ativa no antro gástrico (EAP)

		CagA EPIYA					Total
		AB	ABC	ABC + ABCC	ABCC	Negativo	
Gastrite ativa no antro gástrico	Discreta	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	4 8,2%	4 8,2%
	Intensa	1 2,0%	3 6,1%	1 2,0%	1 2,0%	0 0,0%	6 12,2%
	Moderada	1 2,0%	2 4,1%	1 2,0%	0 0,0%	3 6,1%	7 14,3%
	Ausente	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 2,0%	31 63,3%	32 65,3%
Total		2 4,1%	5 10,2%	2 4,1%	2 4,1%	38 77,6%	49 100,0%

$p<0,05$

Na tabela 20, foi observado que 16 (32,7%) pacientes não apresentaram gastrite crônica no antro gástrico e dentre eles nenhum apresentou a presença da CagA EPIYA ($p<0,05$).

Os pacientes que tiveram gastrite crônica no antro gástrico foram 33 (67,3%) e o tipo de gastrite crônica mais encontrada foi a discreta com 18 (36,7%) pacientes, seguida pela moderada com 11 (22,4%) e por último a gastrite intensa com 4 (8,2%) pacientes. A CagA EPIYA ABC do *H. pylori* foi a mais frequente e foi encontrada em 5 (10,2%) pacientes distribuídos 3 (6,1%) na gastrite crônica moderada 2 (4,1%) na gastrite crônica intensa. A CagA EPIYA AB manifestou-se em 1 (2,0%) paciente com gastrite crônica intensa e em 1 (2,0%) paciente com gastrite crônica moderada. O tipo CagA EPIYA ABC+ABCC também esteve presente em 1 (2,0%) paciente com gastrite crônica intensa e em 1 (2,0%) paciente com gastrite crônica moderada e o tipo CagA EPIYA ABCC distribuiu-se em 2 (4,1%) pacientes com gastrite crônica moderada. ($p<0,05$) (Tabela 20)

Tabela 20 - Relação do CagA EPIYA pesquisado no antro gástrico e gastrite crônica no antro gástrico (EAP)

		CagA EPIYA				Total	Total	
		AB	ABC	ABC + ABCC	ABCC			Negativo
Gastrite crônica no antro gástrico	Discreta	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	18 36,7%	18 36,7%	
	Intensa	1 2,0%	2 4,1%	1 2,0%	0 0,0%	0 0,0%	4 8,2%	
		Moderada	1 2,0%	3 6,1%	1 2,0%	2 4,1%	4 8,2%	11 22,4%
	Ausente		0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	16 32,7%	16 32,7%
	Total		2 4,1%	5 10,2%	2 4,1%	2 4,1%	38 77,6%	49 100,0%

$p<0,05$

A tabela 21 demonstra que 30 (61,2%) pacientes não apresentaram positividade para o *H. pylori* na mucosa do antro gástrico e dentre eles nenhum dos pacientes apresentou a presença da CagA EPIYA ($p<0,05$).

Os pacientes que tiveram a positividade da bactéria no antro gástrico foram 19 (38,8%) e a densidade bacteriana mais encontrada foi a intensa com 9 (18,4%) pacientes, seguida pela moderada e escassa com 5 (10,2%) pacientes uniformemente distribuídos para cada uma. A CagA EPIYA ABC do *H. pylori* foi a mais frequente e foi encontrada em 5 (10,2%) pacientes distribuídos 3 (6,1%) pacientes na densidade intensa e 2 (4,1%) pacientes na moderada. A CagA EPIYA AB manifestou-se em 2 (4,1%) pacientes com densidade intensa. O tipo CagA EPIYA ABC+ABCC esteve presente em 1 (2,0%) paciente com densidade intensa e em 1 (2,0%) paciente com densidade escassa e o tipo CagA EPIYA ABCC distribuiu-se em 1 (2,0%) paciente com densidade escassa e 1 (2,0%) paciente com densidade intensa ($p<0,05$) (Tabela 21).

Tabela 21 - Relação do CagA EPIYA pesquisado no antro gástrico e densidade do *H. pylori* pesquisado no antro gástrico (EAP)

		CagA EPIYA					Total
		AB	ABC	ABC + ABCC	ABCC	Negativo	
<i>H. pylori</i> presente no antro gástrico	Escasso	0	0	1	1	3	5
		0,0%	0,0%	2,0%	2,0%	6,1%	10,2%
	Intenso	2	3	1	1	2	9
		4,1%	6,1%	2,0%	2,0%	4,1%	18,4%
	Moderado	0	2	0	0	3	5
		0,0%	4,1%	0,0%	0,0%	6,1%	10,2%
Ausente	0	0	0	0	30	30	
	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	61,2%	61,2%	
Total		2	5	2	2	38	49
		4,1%	10,2%	4,1%	4,1%	77,6%	100,0%

$p<0,05$

Discussão

7. DISCUSSÃO

H. pylori infecta atualmente aproximadamente metade da população mundial e esta bactéria é considerada como a principal causa de gastrite. A gastrite surge como uma resposta imune local contra a bactéria, porém a maioria dos pacientes se mostra assintomática, e isto foi bem evidenciado neste estudo, onde não conseguimos estabelecer nenhuma correspondência clínica como um dado preditivo para o diagnóstico do *H. pylori*, apesar de um minucioso questionário ter sido feito pelo médico entrevistador.

Para a detecção do *H. pylori* no presente estudo, foram utilizados três métodos diferentes: teste rápido da urease no antro gástrico realizado no momento do exame de endoscopia digestiva alta e exame anatomopatológico no corpo e antro gástrico para a pesquisa da bactéria em 126 pacientes e em 49 pacientes, também realizou-se biologia molecular para pesquisa do gene 16S *rRNA*. Estas técnicas foram realizadas no intuito de evitar os chamados falsos-negativos, visto que não existe um único exame que é considerado “ideal” para o diagnóstico de infecção pelo *H. pylori*. Desta forma, pode-se sugerir que neste estudo houve uma minimização nos pacientes *H. pylori* falsos negativos, o que o deixou bastante confiável.

Sabe-se que uma porcentagem de pacientes infectados pode evoluir para patologias mais graves no trato digestivo superior como a úlcera péptica, gastrite atrófica (precursora muitas vezes do câncer gástrico) e o linfoma tipo MALT, justificante assim a importância do diagnóstico correto, tipos de cepas bacterianas e o tratamento desta bactéria nos pacientes infectados.

No Brasil a prevalência da infecção pelo *H. pylori* é bastante variada e depende muito da região pesquisada, sendo que, taxas mais elevadas são encontradas em regiões de nível socioeconômico mais baixo. Neste estudo foi evidenciada uma porcentagem para a presença da bactéria, através do EAP no antro gástrico, em 33,3 % dos pacientes examinados, isto é, 42 dos 126 estudados. Valor baixo para o Brasil, fato que pode ser explicado pela melhor condição socioeconômica dos pacientes que foram procedentes da UFTM e de Clínica Particular.

Baseando-se somente na anamnese, e em situações clínicas frequentes como dor epigástrica, pirose, tabagismo, etilismo, obesidade, e diabetes dentre outras, não foi obtido, neste estudo, uma prévia para o diagnóstico da bactéria. A dor epigástrica foi o sintoma mais frequente acometendo 105 (83,3%) pacientes, seguida pelo sintoma pirose que se manifestou em 86 (68,3%) pacientes, porém sem significância estatística. Não conseguimos estabelecer uma relação em o sexo masculino e feminino e a presença da bactéria no estômago.

Neste estudo concluímos que os pacientes que estavam fazendo uso de inibidores de bomba de prótons apresentaram uma negatividade maior para a presença da bactéria com importância estatística significativa, isto é, o uso de inibidores de bomba de prótons diminuiu a positividade da bactéria no estômago diagnosticado pelo EAP das biópsias do antro gástrico.

O exame de endoscopia digestiva alta foi realizado em todos os 126 pacientes estudados e a conclusão do exame teve significância estatística diante da presença da bactéria no estômago. Dentre elas podemos citar o corpo e antro gástrico normal e ausência de *H. pylori* e a gastrite de corpo e antro gástrico e a presença da bactéria em cada região respectivamente.

Já se questionou no passado a associação da piora da esofagite de refluxo em alguns pacientes quando tratados da infecção pelo *H. pylori*. A explicação de tal fato se dá pela volta do aumento da secreção de ácido pelo estômago, e assim tornar o refluxo ácido gástrico para o esôfago mais agressivo, porém, no presente estudo esta associação não foi comprovada. A esofagite de refluxo esteve presente no exame de EDA em 29 (23%) pacientes e destes, um total de 25 (19,8%) não tiveram a presença da bactéria no antro gástrico. Já a normalidade do esôfago esteve em 97 (77,0%) pacientes e destes, 59 (46,8%) pacientes não tiveram a presença da bactéria diagnosticada.

No presente estudo, foram encontrados pacientes com gastrite crônica e sem evidência de infecção pelo *H. pylori*. De acordo com a literatura existem algumas explicações para este índice de negatividade, apesar de diferentes exames de detecção ser utilizados. Assim, o achado de gastrite crônica ativa sem a presença detectável de *H. pylori* parece estar em ascensão no ocidente e para isto são citados fatos que incluem antibioticoterapia para tratamento de outras infecções, uso generalizado de inibidores de bomba de prótons, amostragem inadequada da bactéria ou técnicas de colorações abaixo do ideal (GENTA; LASH, 2010; NORDENSTEDT et al., 2013).

Quando no exame anatomopatológico dos pacientes estudados foi constatada a ausência de alterações no corpo do estômago, esta ausência de alterações mostrou uma relação direta com a ausência da presença da bactéria. Isto é, observamos que dos 59 (46,8%) pacientes que apresentaram o corpo do estômago normal ao exame anatomopatológico somente 1 (0,08%) paciente teve a positividade para o *H. pylori*. Quando a bactéria se mostrou presente no corpo gástrico, observou-se que a densidade de infecção mais encontrada do *H. pylori* em relação às alterações histopatológicas foi de forma “moderada”, atingindo 24 (19,0%) pacientes dos 67 (53,2%) pacientes com alterações histopatológicas no corpo gástrico.

Já no antro gástrico, todos os 27 (21,4%) pacientes com antro gástrico normal tiveram a ausência da bactéria no mesmo. Dos 99 (79,6%) pacientes com alterações histopatológicas, 57 (45,2%) pacientes tiveram a presença da bactéria no mesmo.

A secreção gástrica é bastante influenciada pela infecção crônica do *H. pylori* e vai depender do grau e localização da gastrite e conseqüentemente relacionados com o tipo de doença no estômago. Sabe-se que em indivíduos com gastrite predominantemente antral pelo *H. pylori*, tem um aumento da secreção de ácido clorídrico e daí predispondo a formação de úlcera duodenal, enquanto que nos outros com gastrite predominantemente no corpo ou pangastrite, a secreção de ácido é diminuída, resultando em atrofia gástrica e assim estes indivíduos têm um risco aumentando de câncer gástrico (MCCOLL; EL-OMAR; GILLEN, 1998).

Neste estudo podemos observar que dos 126 pacientes estudados, 62 (49,2%) pacientes não apresentaram gastrite crônica no corpo gástrico e dentre eles nenhum apresentou a infecção pelo *H. pylori*, enquanto que os pacientes que tiveram gastrite crônica presente foram 64 (50,7%) e o tipo de atividade mais encontrada foi a discreta com 48 (38,09%) pacientes, e a densidade de infecção pelo *H. pylori* predominante foi a moderada com 24 (19,0%) pacientes infectados. Mostrando assim uma íntima relação da bactéria com a gastrite crônica do corpo gástrico.

Os pacientes estudados neste trabalho mostraram uma associação direta com a normalidade e ausência de infecção do *H. pylori* e associação de gastrite ativa tanto em corpo quanto em antro gástrico quando a bactéria está presente. Alguns fatores de virulência do *H. pylori* têm sido associados com diferentes doenças resultantes da infecção crônica da bactéria, conforme demonstrado neste estudo. Pesquisas têm demonstrado diferenças regionais na

distribuição da presença do gene *cagA* em amostras de *H. pylori* e sua associação com o desenvolvimento de doenças gastrointestinais (MARTINS et al., 2005; ZHENG et al., 2000).

A prevalência de amostras *cagA*-positivas varia de uma região geográfica para outra. Em países orientais como China e Japão, praticamente todas as amostras de *H. pylori* são *cagA*-positivas enquanto que em países como Estados Unidos e Brasil, as amostras *cagA* tem sido mais frequentemente encontradas em pacientes com úlcera (ASHOUR et al., 2002). Recentemente, outros estudos tem demonstrado alta positividade para o gene *cagA* em amostras de *H. pylori* obtidas de pacientes com gastrite, úlcera péptica e câncer gástrico (CAVALCANTE et al., 2012).

Interessante observar que uma baixa prevalência do gene *cagA* foi detectada em uma população do sudeste Asiático, onde apenas 39,5% dos pacientes com úlcera estavam infectados por amostras de *H. pylori cagA*-positivas e nenhuma associação com câncer gástrico e úlcera gástrica foi encontrada (AMJAD et al., 2010).

Neste estudo observou-se que no grupo dos 49 pacientes estudados, 32 (65,3%) não apresentaram gastrite ativa no antro gástrico e dentre eles somente 1 (2,0%) apresentou a presença do gene *cagA*, mostrando assim a íntima relação da ausência do gene e a ausência de gastrite ativa no antro gástrico.

E dentre o grupo dos 49 pacientes, os que tiveram gastrite ativa no antro gástrico totalizaram 17 (34,7%) pacientes, e apresentaram o tipo de atividade mais encontrada como moderada em 7 (14,3%) pacientes, seguida pela intensa com 6 (12,2%) pacientes e por último a gastrite ativa discreta com 4 (8,2%) pacientes. A presença do gene *cagA* do *H. pylori* foi encontrada em 11 (22,4%) pacientes. Dado este que comprovou a estreita relação do gene *cagA* com as alterações anatomopatologias no estômago. Este fato também foi evidenciado quando se estudou a presença de gastrite crônica no antro gástrico.

Na América Latina foi relatada uma alta prevalência (71%) do gene *cagA* na população estudada na Colômbia (AREVALO-GALVIS et al., 2012). Enquanto que no Brasil, a alta prevalência do gene *cagA* nas amostras de *H. pylori* tem sido associada ao câncer gástrico (CAVALCANTE et al., 2012; EVANS et al., 1998) e úlcera péptica (EVANS et al., 1998; GATTI et al., 2006; MARTINS et al., 2005).

Recentemente foram descritos sítios de fosforilação na proteína CagA denominados EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) A, B, C e D de acordo com a sequência dos aminoácidos. A proteína CagA quase sempre possui sítios EPIYA A e B que podem ou não conter um, dois ou três sítios C, em amostras que circulam nos países ocidentais, ou um sítio D, em países do Leste Asiático (HATAKEYAMA, 2011). O número aumentado do sítio EPIYA-C tem sido associado com fenômenos celulares que predisõem ao câncer gástrico no nosso país, e foi encontrada associação entre o número de repetições EPIYA-C com o aumento do risco para desenvolvimento de câncer gástrico mesmo após ajuste de fatores como idade e sexo. Esses autores ainda demonstraram que o aumento do número de repetições EPIYA-C está associado à gastrite atrófica e metaplasia intestinal (BATISTA et al., 2011).

No presente estudo 32 (65,37%) pacientes do grupo dos 49 pacientes não apresentaram gastrite ativa no antro gástrico e dentre eles somente 1 (2,0%) apresentou a presença da CagA EPIYA. Correlacionando a ausência de gastrite ativa com a ausência deste fator de virulência.

Dentre os pacientes que tiveram gastrite ativa no antro gástrico que foram 17 (34,6%) o tipo de gastrite ativa mais encontrado foi a moderada com 7 (14,3%) pacientes, seguida pela intensa com 6 (12,2%) pacientes e por último a gastrite discreta com 4 (8,2%) pacientes. A CagA EPIYA ABC do *H. pylori* foi a mais frequente e foi encontrada em 5 (10,2%) pacientes distribuídos da seguinte forma: 3 (6,1%) na gastrite ativa intensa e 2 (4,1%) na gastrite ativa moderada. A CagA EPIYA AB manifestou-se em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa intensa e em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa moderada. O tipo CagA EPIYA ABC+ABCC também esteve presente em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa intensa e em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa moderada e o tipo CagA EPIYA ABCC distribuiu-se em 1 (2,0%) paciente com gastrite ativa intensa e em 1 (2,0%) paciente sem gastrite ativa.

Neste estudo, demonstrou-se que 30 (61,2%) pacientes não apresentaram positividade para o *H. pylori* na mucosa do antro gástrico e dentre eles nenhum dos pacientes apresentou a presença da CagA EPIYA, servindo como grupo controle da fidelidade do exame realizado.

Ainda, neste estudo, verificou-se que os pacientes que tiveram a positividade da bactéria no antro gástrico foram 19 (38,8%) e a densidade bacteriana mais encontrada foi a intensa com 9 (18,4%) pacientes, seguida pela moderada e escassa com 5 (10,2%) pacientes uniformemente distribuídos para cada uma. A CagA EPIYA ABC do *H. pylori* foi a mais frequente e foi encontrada em 5 (10,2%) pacientes e distribuídos da seguinte forma: 3 (6,1%)

pacientes na densidade intensa e 2 (4,1%) pacientes na moderada. A CagA EPIYA AB manifestou-se em 2 (4,1%) pacientes com densidade intensa. O tipo CagA EPIYA ABC+ABCC esteve presente em 1 (2,0%) paciente com densidade intensa e em 1 (2,0%) paciente com densidade escassa e o tipo CagA EPIYA ABCC distribuiu-se em 1 (2,0%) paciente com densidade escassa e 1 (2,0%) paciente com densidade intensa.

Conclusões

8. CONCLUSÕES

- O *H. pylori* não mostrou nenhum fator clínico preditivo de infecção.
- No exame de EDA, destacaram-se dados do laudo do exame como sugestivos para presença de provável infecção da bactéria.
- O exame anatomopatológico mostrou-se necessário para classificar as diferentes gastrites e/ou alterações citológicas provocadas pela bactéria.
- O estudo da presença do gene *cagA* e os sítios de fosforização CagA EPIYA são importantíssimos, porém ainda está aquém dos exames de rotina na prática diária.

Referências

9. REFERÊNCIAS

ALLAKER, R. P. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* at oral and gastrointestinal sites in children: evidence for possible oral-to-oral transmission. **J Med Microbiol**, v. 51, n. 4, p. 312-7, Apr 2002.

AMIEVA, M. R.; EL-OMAR, E. M. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology**, v. 134, n. 1, p. 306-23, Jan 2008.

AMJAD, N. et al. Clinical significance of *Helicobacter pylori* cagA and iceA genotype status. **World J Gastroenterol**, v. 16, n. 35, p. 4443-7, Sep 21 2010.

AREVALO-GALVIS, A. et al. Prevalence of cagA, vacA, babA2 and iceA genes in *H. pylori* strains isolated from Colombian patients with functional dyspepsia. **Pol J Microbiol**, v. 61, n. 1, p. 33-40, 2012.

ASAHI, M. et al. *Helicobacter pylori* CagA protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. **J Exp Med**, v. 191, n. 4, p. 593-602, Feb 21 2000.

ASHOUR, A. A. et al. Distribution of vacA genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v. 33, n. 3, p. 173-8, Jul 12 2002.

BATISTA, S. A. et al. Higher number of *Helicobacter pylori* CagA EPIYA C phosphorylation sites increases the risk of gastric cancer, but not duodenal ulcer. **BMC Microbiol**, v. 11, p. 61, 2011.

BACCHI, et al. **Manual de Padronização de Laudos Histopatológicos - Sociedade Brasileira de Patologia** - 3ª. ed. , capítulo 39, pag. 407-411, 2005.

BITTENCOURT, P. F. et al. Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. **J Pediatr (Rio J)**, v. 82, n. 5, p. 325-34, Sep-Oct 2006.

CAVALCANTE, M. Q. et al. *Helicobacter pylori* vacA and cagA genotypes in patients from northeastern Brazil with upper gastrointestinal diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 4, p. 561-3, Jun 2012.

CENSINI, S. et al. *cag*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 93, n. 25, p. 14648-53, Dec 10 1996.

CHEY, W. D.; WONG, B. C.; PRACTICE PARAMETERS COMMITTEE OF THE AMERICAN COLLEGE OF, G. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. **Am J Gastroenterol**, v. 102, n. 8, p. 1808-25, Aug 2007.

COVER, T. L.; BLASER, M. J. *Helicobacter pylori* infection, a paradigm for chronic mucosal inflammation: pathogenesis and implications for eradication and prevention. **Adv Intern Med**, v. 41, p. 85-117, 1996.

COVER, T. L.; DOOLEY, C. P.; BLASER, M. J. Characterization of and human serologic response to proteins in *Helicobacter pylori* broth culture supernatants with vacuolizing cytotoxin activity. **Infect Immun**, v. 58, n. 3, p. 603-10, Mar 1990.

CRABTREE, J. E. et al. Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration, and gastric pathology. **Lancet**, v. 338, n. 8763, p. 332-5, Aug 10 1991.

DIXON, M. F. et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. **Am J Surg Pathol**, v. 20, n. 10, p. 1161-81, Oct 1996.

DOWSETT, S. A.; KOWOLIK, M. J. Oral *Helicobacter pylori*: can we stomach it? **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 14, n. 3, p. 226-33, 2003.

EVANS, D. G. et al. *Helicobacter pylori* *cagA* status and *s* and *m* alleles of *vacA* in isolates from individuals with a variety of *H. pylori*-associated gastric diseases. **J Clin Microbiol**, v. 36, n. 11, p. 3435-7, Nov 1998.

EVERHART, J. E. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterol Clin North Am**, v. 29, n. 3, p. 559-78, Sep 2000.

GATTI, L. L. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* *cagA*, *iceA* and *babA2* alleles in Brazilian patients with upper gastrointestinal diseases. **Acta Trop**, v. 100, n. 3, p. 232-40, Dec 2006.

GENTA, R. M.; LASH, R. H. *Helicobacter pylori*-negative gastritis: seek, yet ye shall not always find. **Am J Surg Pathol**, v. 34, n. 8, p. e25-34, Aug 2010.

GOODWIN, C. S. *Campylobacter pylori* becomes *Helicobacter pylori*. **Lancet**, v. 2, n. 8670, p. 1019-20, Oct 28 1989.

GOODWIN, C. S. et al. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. **J Med Microbiol**, v. 19, n. 2, p. 257-67, Apr 1985.

GRUBEL, P. et al. Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) for *Helicobacter pylori*. **J Clin Microbiol**, v. 35, n. 6, p. 1300-3, Jun 1997.

HATAKEYAMA, M. *Helicobacter pylori* CagA -- a bacterial intruder conspiring gastric carcinogenesis. **Int J Cancer**, v. 119, n. 6, p. 1217-23, Sep 15 2006.

HATAKEYAMA, M. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. **J Gastroenterol**, v. 44, n. 4, p. 239-48, 2009.

HATAKEYAMA, M. Anthropological and clinical implications for the structural diversity of the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein. **Cancer Sci**, v. 102, n. 1, p. 36-43, Jan 2011.

HOCKER, M.; HOHENBERGER, P. *Helicobacter pylori* virulence factors--one part of a big picture. **Lancet**, v. 362, n. 9391, p. 1231-3, Oct 11 2003.

KELLY, S. M. et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. **Gastroenterology**, v. 107, n. 6, p. 1671-4, Dec 1994.

KUSTERS, J. G.; VAN VLIET, A. H.; KUIPERS, E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. **Clin Microbiol Rev**, v. 19, n. 3, p. 449-90, Jul 2006.

MARSHALL, B. *Helicobacter pylori*: 20 years on. **Clin Med**, v. 2, n. 2, p. 147-52, Mar-Apr 2002.

MARSHALL, B. J. et al. Urea protects *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori* from the bactericidal effect of acid. **Gastroenterology**, v. 99, n. 3, p. 697-702, Sep 1990.

MARTINS, L. C. et al. Clinical and pathological importance of *vacA* allele heterogeneity and *cagA* status in peptic ulcer disease in patients from North Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 875-81, Dec 2005.

MATTAR, R. et al. No correlation of babA2 with vacA and cagA genotypes of *Helicobacter pylori* and grading of gastritis from peptic ulcer disease patients in Brazil. **Helicobacter**, v. 10, n. 6, p. 601-8, Dec 2005.

MCCOLL, K. E. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. **N Engl J Med**, v. 362, n. 17, p. 1597-604, Apr 29 2010.

MCCOLL, K. E.; EL-OMAR, E.; GILLEN, D. Interactions between *H. pylori* infection, gastric acid secretion and anti-secretory therapy. **Br Med Bull**, v. 54, n. 1, p. 121-38, 1998.

MCGEE, D. J.; MOBLEY, H. L. Mechanisms of *Helicobacter pylori* infection: bacterial factors. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 241, p. 155-80, 1999.

NAITO, M. et al. Influence of EPIYA-repeat polymorphism on the phosphorylation-dependent biological activity of *Helicobacter pylori* CagA. **Gastroenterology**, v. 130, n. 4, p. 1181-90, Apr 2006.

NGUYEN, L. T. et al. Evaluation of the anti-East Asian CagA-specific antibody for CagA phenotyping. **Clin Vaccine Immunol**, v. 16, n. 11, p. 1687-92, Nov 2009.

NGUYEN, T. N.; BARKUN, A. N.; FALLONE, C. A. Host determinants of *Helicobacter pylori* infection and its clinical outcome. **Helicobacter**, v. 4, n. 3, p. 185-97, Sep 1999.

NORDENSTEDT, H. et al. *Helicobacter pylori*-negative gastritis: prevalence and risk factors. **Am J Gastroenterol**, v. 108, n. 1, p. 65-71, Jan 2013.

O'TOOLE, P. W.; LANE, M. C.; PORWOLLIK, S. *Helicobacter pylori* motility. **Microbes Infect**, v. 2, n. 10, p. 1207-14, Aug 2000.

PANDOLFINO, J. E.; HOWDEN, C. W.; KAHRILAS, P. J. *H. pylori* and GERD: is less more? **Am J Gastroenterol**, v. 99, n. 7, p. 1222-5, Jul 2004.

PARSONNET, J. et al. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. **Gut**, v. 40, n. 3, p. 297-301, Mar 1997.

RADOSZ-KOMONIEWSKA, H. et al. Pathogenicity of *Helicobacter pylori* infection. **Clin Microbiol Infect**, v. 11, n. 8, p. 602-10, Aug 2005.

RILEY, L. K. et al. Identification of murine helicobacters by PCR and restriction enzyme analyses. **J Clin Microbiol**, v. 34, n. 4, p. 942-6, Apr 1996.

SHI, R. et al. Prevalence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Chinese populations. **Helicobacter**, v. 13, n. 2, p. 157-65, Apr 2008.

SONG, X. et al. H. pylori-encoded CagA disrupts tight junctions and induces invasiveness of AGS gastric carcinoma cells via Cdx2-dependent targeting of Claudin-2. **Cell Immunol**, v. 286, n. 1-2, p. 22-30, Nov-Dec 2013.

SUERBAUM, S.; MICHETTI, P. *Helicobacter pylori* infection. **N Engl J Med**, v. 347, n. 15, p. 1175-86, Oct 10 2002.

UEMURA, N. et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. **N Engl J Med**, v. 345, n. 11, p. 784-9, Sep 13 2001.

WANG, S. K. et al. CagA+ *H pylori* infection is associated with polarization of T helper cell immune responses in gastric carcinogenesis. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 21, p. 2923-31, Jun 7 2007.

WEN, S.; MOSS, S. F. *Helicobacter pylori* virulence factors in gastric carcinogenesis. **Cancer Lett**, v. 282, n. 1, p. 1-8, Sep 8 2009.

WOODWARD, M.; MORRISON, C.; MCCOLL, K. An investigation into factors associated with *Helicobacter pylori* infection. **J Clin Epidemiol**, v. 53, n. 2, p. 175-81, Feb 2000.

YAMAOKA, Y. Pathogenesis of *Helicobacter pylori*-Related Gastroduodenal Diseases from Molecular Epidemiological Studies. **Gastroenterol Res Pract**, v. 2012, p. 371503, 2012.

YAMAOKA, Y. et al. *Helicobacter pylori* cagA gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa. **Gastroenterology**, v. 110, n. 6, p. 1744-52, Jun 1996.

YAMAOKA, Y. et al. Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. **J Clin Microbiol**, v. 37, n. 7, p. 2274-9, Jul 1999.

ZATERKA, S. et al. Factors related to *Helicobacter pylori* prevalence in an adult population in Brazil. **Helicobacter**, v. 12, n. 1, p. 82-8, Feb 2007.

ZHENG, P. Y. et al. Association of peptic ulcer with increased expression of Lewis antigens but not cagA, iceA, and vacA in *Helicobacter pylori* isolates in an Asian population. **Gut**, v. 47, n. 1, p. 18-22, Jul 2000.

Anexos

10. ANEXOS

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Data: ____/____/____

Número de registro: _____

Nome do Paciente:

Você está sendo convidado para participar da pesquisa clínica: “INFECÇÃO POR *Helicobacter pylori* NA MUCOSA GÁSTRICA: HISTÓRIA CLÍNICA, ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA, EXAME ANATOMAPATOLÓGICO, GENE *cagA* E SÍTIOS DE FOSFORILAÇÃO *CagA EPIYA*” de responsabilidade da Profa. Dra. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues e Dra. Natalia Maria Jacom Wood da Silva e que será desenvolvida na Universidade de Uberaba (UNIUBE) e Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

Esta pesquisa pretende estudar as alterações da parte interna do seu esôfago e do seu estômago, já que você apresenta sintomas do trato gastrointestinal superior, bem como pesquisar a presença de uma bactéria chamada de *Helicobacter pylori* no seu estômago.

Acreditamos que ela seja importante porque irá ajudar você e outros pacientes a terem um melhor esclarecimento da doença do refluxo, da presença da bactéria no estômago, bem como melhorar os seus possíveis tratamentos.

Para a realização deste estudo, precisamos da sua colaboração em autorizar a utilização destes fragmentos da parte interna do seu esôfago e do seu estômago.

Deixamos bem claro que o exame de endoscopia digestiva alta que agora você irá fazer, já realiza normalmente a retirada de fragmentos da parte interna do esôfago e do estômago.

Portanto ao autorizar a utilização dos fragmentos da parte interna do seu esôfago e do seu estômago para o presente estudo, você estará tendo uma possível melhora no seu diagnóstico e no seu tratamento e isto será feito sem nenhum custo a mais tanto físico bem como financeiro.

Os possíveis desconfortos ou riscos que poderão acontecer são os mesmos de um exame de endoscopia digestiva alta realizada de rotina, isto é, o exame é geralmente seguro e as complicações são raras. Pode ocorrer sangramento, normalmente mínimo, após a retirada

dos fragmentos citados. Outros riscos incluem irritação no local onde foi aplicada a medicação endovenosa, reações alérgicas aos medicamentos sedativos empregados. Complicações maiores como perfuração, são muito raras.

Pela sua participação no estudo, você não receberá nenhum pagamento, e também não terá nenhum custo. Você poderá parar de participar a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo para você ou para seu tratamento/atendimento.

Sinta-se à vontade para solicitar, a qualquer momento, os esclarecimentos que você julgar necessários.

Se você aceitar participar deste estudo, as informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação de você e de outros pacientes, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação. Será também utilizada imagens a nível de microscopia e imunologia do material coletado, porém sem identificar o nome de nenhum paciente, conforme já citado.

Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores. Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial.

Uma cópia desse termo, assinado por um membro responsável pela equipe, onde consta a identificação e os telefones da equipe de pesquisadores, está sendo entregue a você, caso queira entrar em contato com eles.

Assinatura do responsável pela obtenção do TCLE

Dados dos pesquisadores:

Profa. Dra. Denise Bertulucci Rodrigues

e-mail: denise.rodrigues@uniube.br 9158-9234

Dra. Natalia Maria Jacom Wood da Silva

e-mail: wood@mednet.com.br 9972-4000

Autorização

Eu, _____ após a leitura (ou escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com um dos pesquisadores responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresso minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

Assinatura do voluntário ou de seu representante legal

Assinatura de uma testemunha

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário (ou seu representante legal) para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pela autorização do CLE

Dados dos pesquisadores:

Profa. Dra. Denise Bertulucci Rodrigues

e-mail: denise.rodrigues@uniube.br 9158-9234

Dra. Natalia Maria Jacom Wood da Silva

e-mail: wood@mednet.com.br 9972-4000

Questionário Médico para Pesquisa Clínica

Data: ____/____/____ Número de registro: _____ Grupo: _____

Título da Pesquisa:

“INFECÇÃO POR *Helicobacter pylori* NA MUCOSA GÁSTRICA: HISTÓRIA CLÍNICA, ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA, EXAME ANATOMAPATOLÓGICO, GENE *cagA* E SÍTIOS DE FOSFORILAÇÃO CagA EPIYA”

Pesquisadores responsáveis:

Profa. Dra. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues e

Dra. Natalia Maria Jacom Wood da Silva

Identificação do Paciente:

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: _____ Cor: _____ Estado Civil: _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____ Profissão: _____

Endereço: _____ N° _____

Bairro: _____ Cidade: _____ Estado: _____

Telefones: Celular (____) _____ Fixo: (____) _____

e-mail de contato: _____

História Clínica:

Dor: não () sim () Tipo: pirose () cólica () outras: _____

Náuseas: não () sim () Vômitos: não () sim () Disfagia: não () sim ()

Laringite de repetição: não () sim () Rouquidão: não () sim () Pigarro: não () sim ()

Tosse seca “tipo alérgica”: não () sim () Tosse noturna: não () sim ()

Asma ou bronquite: não () sim () Recente: não () sim ()

Regurgitação: não () sim () De: líquidos () alimentos () outros ()

Tabagismo: não () sim () carga tabágica: _____

Etilismo: não () sim () quantidade diária: _____

Gravidez: não () sim () G ___ P ___ C ___ A ___

Outros sintomas e/ou doenças:

Antecedentes de câncer na família: não () sim ()

Qual e quando:

Tratamento clínico anterior para doenças do aparelho digestivo: não () sim ()

Qual doença:

Cirurgias realizadas:

Medicamentos atualmente em uso:

Tratamento anterior para *Helicobacter pylori*: não () sim ()

omeprazol 20 + claritromicina 500 + amoxicilina 500 - bid ()

lansoprazol 30 + claritromicina 500 + amoxicilina 500 - bid ()

lansoprazol 30 + levofloxacino 500 + amoxiciliana 500 - bid ()

Outros medicamentos utilizados no tratamento:

Responsável pelo preenchimento: _____

Exame de Endoscopia Digestiva Alta

Data: ____/____/____

Número de registro: _____

Nome do Paciente:

Dados do Exame de Endoscopia Digestiva Alta:

Nome do médico examinador: _____

Local de realização do exame: _____

Equipamento utilizado: _____

Medicação utilizada no exame: _____

Local de biópsias realizadas:

esôfago distal () antro gástrico () corpo gástrico () fundo ()

outros: _____

Esofagoscopia:

Normal: sim () não ()

Esofagite: não () sim () Tipo: _____

Esofagite erosiva: não () sim () grau I () grau II () grau III () grau IV ()

Esôfago de Barrett: não () sim () curto () longo ()

Hérnia de Hiato: não () sim () Tamanho: _____cm Tipo: desli () rolam ()

Estenose péptica: não () sim () úlcera: não () sim () erosões: não () sim ()

Câncer: não () sim ()

Outros: _____

Gastroscopia:

Normal: sim () não ()

Gastrite: não () sim () elevada () plana () erosiva () enantematosa ()

Antro () corpo () fundo () atrófica ()

Úlcera gástrica: não () sim () ativa () cicatriz () antro () corpo () fundo ()

Incisura angularis () pré-pilórica ()

Câncer: não () sim () antro () corpo () cárdia () pré-pilórico ()

Outros: _____

Duodenoscopia:

Normal: sim () não ()

Duodenite: não () sim ()

Úlcera duodenal: não () sim () ativa () cicatriz ()

Outros: _____

Teste da urease: positivo () negativo ()

Diagnóstico clínico do exame de endoscopia digestiva: _____

Exame Anatomopatológico

Data: ____/____/____ Lâmina nº : _____ Número de registro: _____

Nome do Paciente:

Esôfago:

Infiltrado inflamatório linfo-plasmocitário: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Exsudato neutrofílico: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Eosinófilos: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Hiperplasia do epitélio escamoso: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Metaplasia intestinal especializada: presente () ausente ()
 () incompleta; () completa
 () focal () multifocal () difusa

Corpo Gástrico:

Infiltrado inflamatório linfo-plasmocitário: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Exsudato neutrofílico: () ausente; () presente: () mínimo; () moderado; intenso ()
 Reação do epitélio foveolar: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Metaplasia intestinal: () ausente; presente ()
 () incompleta; () completa
 () focal () multifocal () difusa
 Helicobacterpylori() ausente () presente ; Escasso() ; moderado () ; muito ()

Antro Gástrico:

Infiltrado inflamatório linfo-plasmocitário: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Exsudato neutrofílico: () ausente; () presente: () mínimo; () moderado; intenso ()
 Reação do epitélio foveolar: () ausente; () mínimo; () moderado; intenso ()
 Metaplasia intestinal: () ausente; presente ()
 () incompleta; () completa
 () focal () multifocal () difusa
 Helicobacterpylori: () ausente () presente ; escasso() ; moderado () ; muito ()

Diagnóstico:



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

HOSPITAL DE CLÍNICAS

Diretoria de Pesquisa

Av Getúlio Guarita, 130 - Cep: 38.025-440 - Uberaba MG

Fone: (34) 3318 5211 - E-mail - diretoria.pesquisa@hc.uftm.edu.br

Mem. 24/2013/Dir.Pesq./HC/UFTM.

Uberaba, 21 de junho de 2013.

À: Profa. Dra. Denise Bertulucci Rocha Rodrigues

Assunto: parecer de projeto

1. Em relação à solicitamos de V.Sa. de autorização para realização da Pesquisa *“Avaliação da resposta imune na mucosa esofagiana e gástrica de pacientes com esofagite de refluxo portadores de Helicobacter pylori e pacientes com esofagite de refluxo não portadores de Helicobacter pylori”*, ressaltamos que o nosso parecer para realização da mesma é favorável.

Atenciosamente,


Dr. Helio Moraes de Souza
Diretor de Pesquisa/HC/UFTM

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da resposta imune na mucosa esofagiana e gástrica de pacientes com esofagite de refluxo portadores de *H. pylori* e pacientes com esofagite de refluxo não portadores de *H. pylori*

Pesquisador: DENISE BERTULUCCI ROCHA RODRIGUES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 19666013.0.0000.5145

Instituição Proponente: Universidade de Uberaba - UNIUBE

Patrocinador Principal: Universidade de Uberaba - UNIUBE
Sociedade Educacional Uberabense

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 350.874

Data da Relatoria: 06/08/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se do projeto - Avaliação da resposta imune na mucosa esofagiana e gástrica de pacientes com esofagite de refluxo portadores de *Helicobacter pylori* e pacientes com esofagite de refluxo não portadores de *Helicobacter pylori*. - coordenado pela profa Denise Bertulucci Rocha Rodrigues, vinculada ao Programa de Mestrado em Odontologia da Universidade de Uberaba.

Trata-se de um estudo observacional, descritivo e laboratorial.

Serão analisados resultados de biópsias provenientes de exames de endoscopia alta, cujos pacientes foram indicados para esse tipo de exame por determinação médica.

Nas palavras dos proponentes - O estudo será embasado em exames de endoscopia digestiva alta (EDA), não mudando em nada a rotina dos cuidados de atenção à saúde dispensados aos paciente portadores de patologias do trato digestivo superior, ou seja, a realização de biópsias tanto do esôfago como do estômago já faz parte do esclarecimento diagnóstico do exame de EDA realizado no dia a dia. -

Objetivo da Pesquisa:

Apresenta-se como objetivos:

Geral:

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8959

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

UNIVERSIDADE DE UBERABA - UNIUBE

Continuação do Parecer: 350.874

Avaliar os mecanismos da resposta imune nas lesões da mucosa esofagiana e gástrica de pacientes com esofagite de refluxo portadores de *Helicobacter pylori* e pacientes com esofagite de refluxo não portadores de *Helicobacter pylori*.

Específicos:

- 1 Avaliar o processo inflamatório e condições da mucosa em biópsia de esôfago de pacientes portadores de esofagite de refluxo comparadas com grupo controle
- 2 Avaliar a presença da infecção por H. Pylori em pacientes com esofagite de refluxo
- 3 Detectar e quantificar a presença de mastócitos.
- 4 Avaliar e quantificar a presença de fibrose.
- 5 Avaliar MMP-3 e MMP-9
- 6 Analisar in situ a expressão de citocinas do perfil th1(TNF- γ E IFN- γ), Th2(IL-4), Th17 (IL-17, IL-23) e Treg (TGF- β e IL-10).
- 7 Avaliar in situ a expressão de galectinas (1, 3 e 9).
- 8 Avaliar TLR-2 E TLR-4

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são os inerentes a qualquer pesquisa com seres humanos, incluindo a perda da confidencialidade, adequadamente minimizado pelos proponentes. Não há risco adicional ao sujeito, pois ele tem a indicação da endoscopia pelo seu quadro de saúde. Se o paciente for positivo ou negativo para a bactéria H. pilory ele será incluído em um ou outro grupo da pesquisa.

O grupo envolve médicos, com experiência na realização e interpretação do exame endoscópico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é pertinente e aborda um tema importante na área médica, representado pela doença do refluxo gastro esofágico. O protocolo de pesquisa está bem apresentado e embasado na literatura científica atualizada.

Os objetivos são amplos e devem compor um número considerável de trabalhos científicos.

Serão incluídos como participantes indivíduos de ambos os sexos, maiores de 18 anos, com indicação médica para realização de endoscopia digestiva alta.

Apresenta-se como critérios de exclusão:

- 1) Não concordância em participar

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8959

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

Continuação do Parecer: 350.874

- 2) Cirurgia prévia do trato digestivo superior
- 3) Grávidas
- 4) Pacientes com presença de comorbidades graves como neoplasias, doenças do colágeno e distúrbios de coagulação.
- 5) Pacientes que no momento do exame de endoscopia, a critério dos médicos pesquisadores, não apresentavam condições físicas ou mentais de participação no estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta-se a folha de rosto, o TCLE, um modelo de exame anatomopatológico (onde se anota as observações ao exame endoscópico).

Apresenta-se pareceres diversos, incluindo da diretoria clínica, do serviço de endoscopia, dos ambulatórios e da diretoria de pesquisa do Hospital de Clínicas da UFTM.

Recomendações:

não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto está bem apresentado, inclui todos os documentos necessários, o TCLE está bem redigido e adequado. Não há pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em 06 de agosto de 2013 a plenária votou de acordo com o relator.

UBERABA, 06 de Agosto de 2013

Assinador por:
Geraldo Thedei Junior
(Coordenador)

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8959

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

