

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação: Ciências em Gastroenterologia
Dissertação de Mestrado

**Relação entre Infecção pelo
Helicobacter pylori Linhagem *cagA*-positiva
e Risco de Câncer Gástrico**

Gilmara Coelho Meine
Orientador: Dr. João Carlos Prolla

Porto Alegre, 2006

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação: Ciências em Gastroenterologia
Dissertação de Mestrado

**Relação entre Infecção pelo
Helicobacter pylori Linhagem *cagA*-positiva
e Risco de Câncer Gástrico**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina: Gastroenterologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Medicina: Gastroenterologia.

Gilmara Coelho Meine
Orientador: Dr. João Carlos Prolla

Porto Alegre, 2006

M514r Meine, Gilmara Coelho

Relação entre infecção pelo helicobacter pylori linhagem cagA-positiva e risco de câncer gástrico / Gilmara Coelho Meine ; orient. João Carlos Prolla. – 2006. 71 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Gastroenterologia. Porto Alegre, BR-RS, 2006.

1. Neoplasias gástricas 2. Helicobacter pylori 3. Infecções por helicobacter 4. Fatores de risco 5. Fatores de virulência I. Prolla, João Carlos II. Título.

NLM: WI 320

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

Ao meu filho Matheus, razão da minha vida, alegria e luta.

Ao meu marido Manoel, por seu amor e compreensão.

Aos meus pais, Gil e Regina, pela dedicação a minha formação pessoal e profissional e ao sempre incondicional apoio.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. João Carlos Prolla, um exemplo para meu aprimoramento profissional, por seu apoio e orientação na realização deste trabalho;

À Dra Judite Dietz, minha mestre e amiga, que, com generosidade, sempre compartilhou seus conhecimentos, como também não poupou qualquer esforço para me guiar nos caminhos da pesquisa;

À Dra. Cláudia Rota, Dr. Setsuo Sekine, Dr. Eduardo Ott e Dr. Sidnei pardo, pela dedicação de tempo e pelo uso da inquestionável competência, esforços que possibilitaram a realização deste trabalho;

Aos colegas Dr. Fabio Lantz, Dra. Débora Poli, Dra. Mariana Mondin e Dra. Alessandra Muniz, pela amizade e pela indispensável colaboração na coleta de dados;

Aos professores e colegas do Curso de Pós-graduação em Gastroenterologia, pelas valiosas sugestões recebidas nos seminários de pesquisa;

E a todos aqueles que, mesmo não tendo sido citados, contribuíram direta ou indiretamente com a realização deste trabalho.

Apoio financeiro

Este estudo recebeu apoio financeiro da verba PROF do Programa de Pós-graduação: Ciências em Gastroenterologia.

Sumário

Resumo	8
Summary	9
Lista de abreviaturas.....	10
Lista de figuras.....	11
Lista de tabelas.....	12
Lista de gráficos	13
1. Introdução	14
1.1 Fatores de risco ambientais para o desenvolvimento de câncer gástrico	14
1.2 <i>Helicobacter pylori</i>	15
1.2.1 Microbiologia do <i>Helicobacter pylori</i>	15
1.2.2 Epidemiologia.....	18
1.2.3 Vias de transmissão	18
1.2.4 Fatores de virulência.....	19
1.2.4.1 Fatores de colonização.....	19
1.2.4.2 Fatores que induzem lesão tecidual	21
1.2.5 Métodos diagnósticos	22
1.2.5.1 Métodos não invasivos	22
1.2.5.2 Métodos invasivos	23
1.2.6 Doenças associadas à infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	24
1.2.7 Indicações de erradicação.....	26

1.2.8 Tratamento.....	27
1.3 <i>Helicobacter pylori</i> e câncer gástrico.....	27
1.4 <i>Helicobacter pylori</i> linhagem <i>cagA</i> -positiva e câncer gástrico.....	30
2. Justificativa	33
3. Objetivos.....	34
3.1 Objetivo principal.....	34
3.2 Objetivo secundário.....	34
4. Amostra e métodos	35
4.1 Delineamento do estudo	35
4.2 População estudada.....	35
4.2.1 Casos.....	35
4.2.2 Controles.....	36
4.3 Coleta de dados.....	36
4.4 Cálculo da amostra	39
4.5 Análise estatística	39
5. Resultados.....	41
5.1 Grupo caso.....	41
5.2 Grupo controle.....	42
5.3 Grupo caso x grupo controle	43
6. Discussão.....	53
7. Conclusões	58
8. Referências	59
Anexo	71

Resumo

Introdução: O câncer gástrico é a segunda causa mais comum de mortes relacionadas à neoplasia no mundo. Apesar de o *Helicobacter pylori* ser classificado como um carcinógeno grupo I, a presença dessa infecção não é um fator que, isoladamente, possa levar ao desenvolvimento de câncer gástrico, sendo que, entre as possíveis justificativas, está a existência de diferentes linhagens de *Helicobacter pylori* com diferentes graus de virulência.

Material e métodos: Foram pareados, por sexo e por idade, 29 pacientes com adenocarcinoma gástrico distal e 58 pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta, cujo diagnóstico não fosse câncer gástrico. Em todos os pacientes, foi pesquisado o status da infecção por *Helicobacter pylori* (através de teste da urease, histopatológico e PCR para os genes *ureA* e 16S-rRNA), além de determinação do status de infecção por linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori* (através de PCR para o gene *cagA*).

Resultados: A porcentagem de pacientes com infecção por *Helicobacter pylori* foi idêntica nos dois grupos (68,9%). Quando avaliamos a presença de infecção pelo *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva, verificamos que a frequência desta é significativamente mais alta no grupo caso, quando comparado com o grupo controle, ocorrendo em 62,1% e 29,3% desses, respectivamente (OR=3,95; IC 95% 1,543-10,096). Ao avaliarmos apenas os pacientes *Helicobacter pylori*-positivos, a frequência de infecção por linhagem *cagA*-positiva também é mais elevada no grupo caso (90%), quando comparado com o grupo controle (42,5%) (OR=12,18; IC 95% 2,71-52,9).

Conclusões: Existe associação entre infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e adenocarcinoma gástrico distal, independente do status de infecção pelo *Helicobacter pylori*.

Summary

Background: Gastric cancer is the second most common cause of cancer related death worldwide. Although *Helicobacter pylori* has been classified by the World Health Organization as a class I carcinogen, the presence of the infection is not a factor that alone is able to lead to gastric cancer, and one of the possible explanations for this is the existence of different strains of *Helicobacter pylori* with different degrees of virulence.

Materials and methods: 29 patients with gastric cancer were matched by sex and age (+/- 5 years) with 58 patients without gastric cancer, submitted to upper gastrointestinal endoscopy. All patients were evaluated for the status of infection by *Helicobacter pylori* (through urease test, histological analysis and PCR for the genes *ureA* and 16S-rRNA) and for the status of infection by *cagA*-positive strain (through PCR for the gene *cagA*)

Results: evaluating the presence of infection by *cagA*-positive *Helicobacter pylori*, it was verified that the rate of infection was significantly higher in the group with gastric cancer when compared with the matched controls, occurring in 62,1% and 29,3%, respectively (OR=3,95; IC 95% 1,543-10,096). Evaluating only *Helicobacter pylori*-positive patients, the rate of infection by *cagA*-positive strains was also significantly higher in the group with gastric cancer (OR=12,18; IC 95% 2,71-52,9).

Conclusions: There is association between *cagA*-positive *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer, independent of the status of infection by *Helicobacter pylori*.

Lista de abreviaturas

Hp	<i>Helicobacter pylori</i>
CagA	proteína associada ao gene A
<i>cagA</i>	gene associado à proteína A
<i>cag</i> -PAI	ilha de patogenicidade <i>cag</i>
VacA	citotoxina indutora de vacuolização intracelular
<i>vacA</i>	gene codificador da citotoxina VacA
IceA	proteína induzida pelo contato com o epitélio
<i>iceA</i>	gene codificador da proteína IceA
BabA	adesina de ligação ao antígeno de Lewis
<i>babA</i>	gene codificador da proteína BabA
<i>ureA</i>	sub-unidade A do gene estrutural da urease
SHP2	domínio SH2 da proteína tirosina fosfatase
ERK	quinase regulada por sinal extracelular
AP-1	fator de transcrição AP-1
IgG	Imunoglobulina G
MALT	tecido linfóide associado à mucosa
AINE	anti-inflamatório não esteroide
AAS	ácido acetil salicílico
IBP	inibidores da bomba de prótons
PCR	reação em cadeia da polimerase
ELISA	ensaio imunoabsorvente ligado à enzima
IL-8	interleucina-8
MIG	metaplasia intestinal gástrica
UG	úlceras gástricas
UD	úlceras duodenais
OR	razão de chances
IC	intervalo de confiança

Lista de figuras

Figura 1: <i>Helicobacter pylori</i>	16
Figura 2: Representação circular do primeiro genoma seqüenciado do <i>Helicobacter pylori</i> (<i>Helicobacter pylori</i> linhagem 26695)	17
Figura 3: Reação de hidrólise da uréia pela urease	20
Figura 4: Interação entre <i>Helicobacter pylori</i> linhagem <i>cagA</i> -positiva e a célula epitelial gástrica.....	30
Figura 5: Desregulação das funções das células epiteliais gástricas pelo antígeno CagA. 31	

Lista de tabelas

Tabela 1: Características dos pacientes dos grupos caso e controle.....	45
Tabela 2: Sensibilidade e especificidade dos métodos invasivos para detecção do <i>Helicobacter pylori</i> nos pacientes dos grupos caso e controle.....	47
Tabela 3: Frequência de atrofia e/ou metaplasia intestinal gástrica nos pacientes do grupo controle	48
Tabela 4: Risco de adenocarcinoma gástrico distal de acordo com o <i>status</i> de infecção por <i>Helicobacter pylori</i> linhagem <i>cagA</i> -positiva	50
Tabela 5: Risco de adenocarcinoma gástrico distal de acordo com o status de infecção por linhagem <i>cagA</i> -positiva em pacientes <i>Helicobacter pylori</i> -positivos.....	52

Lista de gráficos

- Gráfico 1:** Distribuição dos casos de câncer gástrico por sexo e por faixa etária 46
- Gráfico 2:** Distribuição do status de infecção pelo *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva 49
- Gráfico 3:** Distribuição do status de infecção pela linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori* – subgrupo com infecção por *Helicobacter pylori*..... 51

1. Introdução

O câncer gástrico é a quarta neoplasia mais freqüente e a segunda causa mais comum de mortes relacionadas à neoplasia no mundo (1), apesar de sua incidência vir diminuindo nas últimas décadas (2).

No Brasil, o número de casos novos de câncer de estômago estimados para 2005 foi de 15.170, no sexo masculino, e de 7.975, no feminino, correspondendo a um risco estimado de 17 casos novos/100.000 homens e 9 casos novos/100.000 mulheres. (3)

A incidência é ainda mais elevada na região Sul, onde, excluindo os tumores de pele não melanoma, o câncer gástrico corresponde à terceira neoplasia mais freqüente entre os homens (24/100.000) e à quinta entre as mulheres (12/100.000) (4).

1.1 Fatores de risco ambientais para o desenvolvimento de câncer gástrico

A carcinogênese gástrica ainda não está totalmente entendida, mas alguns dos fatores de risco ambientais identificados para o desenvolvimento dessa neoplasia são: dieta rica em nitrosaminas e em alimentos conservados em sal (5, 6) e pobre em antioxidantes, como as vitaminas C e A (7-11); tabagismo (12- 14); infecção por *Helicobacter pylori* (15-20) e, possivelmente, consumo de álcool (21- 23).

A queda observada na incidência dessa neoplasia nas últimas décadas, provavelmente, deve-se a fatores sócio-econômicos, como melhor conservação dos alimentos; maior consumo de vegetais e menor consumo de alimentos conservados em sal; e declínio da incidência de infecção pelo *Helicobacter pylori* (24, 25).

1.2 *Helicobacter pylori*

O *Helicobacter pylori* foi descoberto em 1982, por Warren e Marshall (26), e, a partir de sua identificação, essa bactéria rapidamente se tornou alvo de incontáveis estudos. Conseqüentemente, em curto período de tempo, os avanços do conhecimento na área puderam ser utilizados, de forma revolucionária, na prática médica. O alcance dessa descoberta pode ser avaliado pelo reconhecimento ao trabalho desses dois pesquisadores através do Prêmio Nobel de Medicina de 2005.

A associação entre infecção por *Helicobacter pylori* e úlcera péptica foi confirmada em 1985 (27). Em 1994, com base em 4 estudos de coorte e em 9 estudos retrospectivos caso-controle, foi determinado, pelo grupo de consenso da Organização Mundial da Saúde e da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC), que havia evidências epidemiológicas e histológicas suficientes para classificar o *Helicobacter pylori* como um carcinógeno grupo I – definido (18).

1.2.1 Microbiologia do *Helicobacter pylori*

O *Helicobacter pylori* é uma bactéria gram-negativa e microaerófila, que pode ser encontrada sob dois tipos de morfologia, a forma bacilar e a forma cocóide. Durante a infecção, a maioria das bactérias presentes na mucosa gástrica permanecem na forma bacilar, apresentando-se com 0,5 a 1,0µm de largura e 2,5 a 5,0µm de comprimento, com formato espiralado ou curvado, com superfície lisa e extremidades arredondadas, possuindo 4 a 6 flagelos unipolares embainhados e bulbos terminais nas extremidades lisas (28) (figura 1). A forma cocóide também pode ser identificada no estômago humano, porém não é

viável, sendo usualmente assumida como uma forma de proteção, quando a bactéria perde a integridade de sua membrana, permitindo sua sobrevivência em ambiente hostil (29).

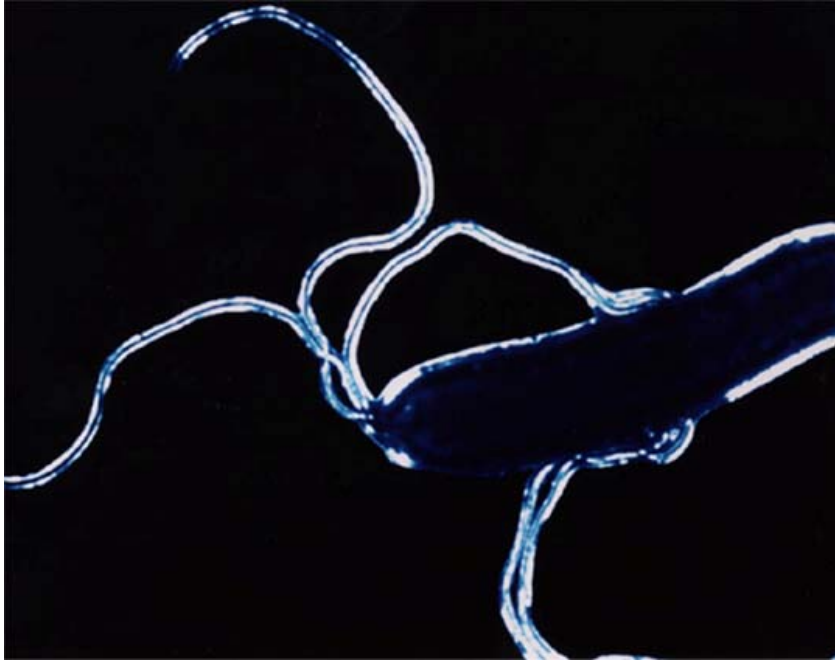


Figura 1: *Helicobacter pylori*. Cortesia do Professor Roger Willén, Departamento de Microbiologia, Lund University, Suécia, para www.infek.lu.se

O *Helicobacter pylori* apresenta trofismo pelo epitélio gástrico, tanto do estômago quanto de áreas de metaplasia gástrica fora do estômago. Pode distribuir-se de maneira focal, segmentar ou difusa na mucosa gástrica, localizando-se no interior ou sob a camada de muco que recobre o epitélio, em íntimo contato com a membrana das células epiteliais que revestem a mucosa. A afinidade dessa bactéria com as células mucíparas do estômago deve-se à composição neutra do muco gástrico, diferente dos mucopolissacarídeos ácidos produzidos pelas células caliciformes intestinais (30).

A seqüência genômica completa do *Helicobacter pylori* foi descrita pela primeira vez por Tomb et al (31). O genoma do *Helicobacter pylori* linhagem 26695 é formado por

um cromossoma circular com tamanho de 1.667.867 pares de bases (figura 2). O seu tamanho, portanto, é muito pequeno, quando comparado com o de outras bactérias capazes de viver em diversos ambientes, tais como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Este fato vem corroborar as evidências epidemiológicas de que o *Helicobacter pylori* viva apenas no estômago humano, tendo em vista possuir menor quantidade de genes regulatórios, assim como limitadas vias enzimáticas e capacidade de biossíntese, que tornam impraticável a sua sobrevivência em outros meios (31).

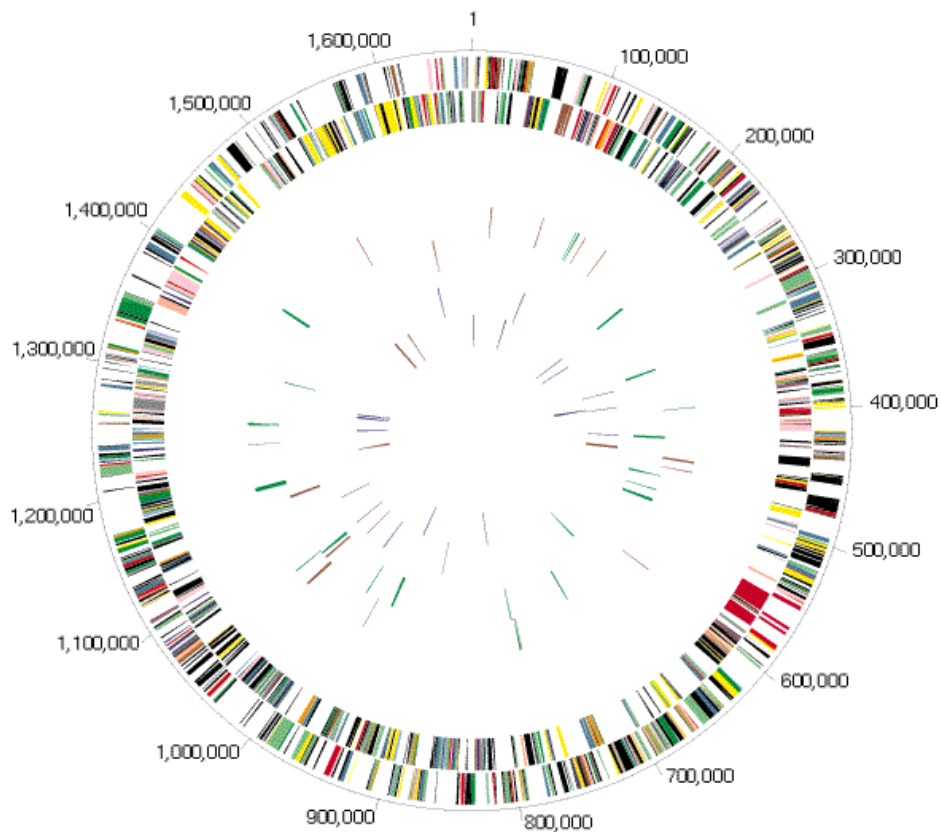


Figura 2: representação circular do primeiro genoma sequenciado do *Helicobacter pylori* (*Helicobacter pylori* linhagem 26695) (31)

1.2.2 Epidemiologia

A infecção pelo *Helicobacter pylori* é uma das infecções mais comuns na espécie humana. Nos diferentes países, as taxas de infecção podem variar de 30 a 90%, dependendo, principalmente, da idade e do nível sócio-econômico da população (32). Um estudo populacional realizado na cidade de Pelotas/RS identificou uma prevalência de infecção de 63,4%, sendo que o nível sócio-econômico na infância foi a variável que apresentou maior associação com a ocorrência da infecção (33).

A infância é o principal período de aquisição da infecção (34). O impacto do nível sócio-econômico sobre as taxas de aquisição pôde ser demonstrado em pesquisa realizada pelo Núcleo Brasileiro para o Estudo do *Helicobacter pylori*. O estudo mostrou que a quantidade de crianças infectadas pela bactéria *Helicobacter pylori* nas famílias de baixa renda (que ganham menos de dois salários mínimos por mês) é significativamente maior do que nas famílias de alta renda. Enquanto que em apenas 6% das crianças mais abastadas a bactéria foi identificada, 60% das crianças pobres já tinham a infecção a partir dos dois anos de idade.

1.2.3 Vias de transmissão

O único reservatório conhecido do *Helicobacter pylori* é o estômago humano, sendo que os mecanismos de transmissão desta bactéria constituem motivo de muita controvérsia. Três rotas de transmissão têm sido descritas (28):

- Via fecal-oral: possivelmente seja a principal rota de transmissão do microorganismo, especialmente em regiões com condições sócio-econômicas e sanitárias insatisfatórias, onde a água contaminada pode ser

uma fonte de infecção. O *Helicobacter pylori* foi identificado em fezes humanas através de PCR e de cultura.

- Via oral-oral: o *Helicobacter pylori* tem sido identificado em saliva e em placa dentária através de PCR e de cultura, sugerindo que a cavidade oral possa ser uma fonte de transmissão da bactéria, assim como uma possível via para reinfecção.
- Via iatrogênica ou gastro-oral: é a menos comum, constituindo-se na transmissão da bactéria através de endoscópios, tubos ou materiais que tenham contato com a mucosa gástrica de um indivíduo e que são introduzidos no estômago de outro. Os bem estabelecidos métodos de desinfecção do material utilizado em endoscopia digestiva reduziram as taxas de transmissão através desta via.

1.2.4 Fatores de virulência

1.2.4.1 Fatores de colonização – São fatores que propiciam um *habitat* adequado para a sobrevivência do *Helicobacter pylori* no ambiente ácido gástrico. Sendo estes:

- Produção de urease - quando exposta a baixo pH, a bactéria produz grande quantidade de urease, que atua promovendo a hidrólise da uréia, presente em condições fisiológicas no suco gástrico, levando à produção de amônia. A amônia atua como receptor de íons hidrogênio, gerando pH neutro no ambiente intracelular e pericelular bacteriano ⁽³⁵⁾ (figura 3):

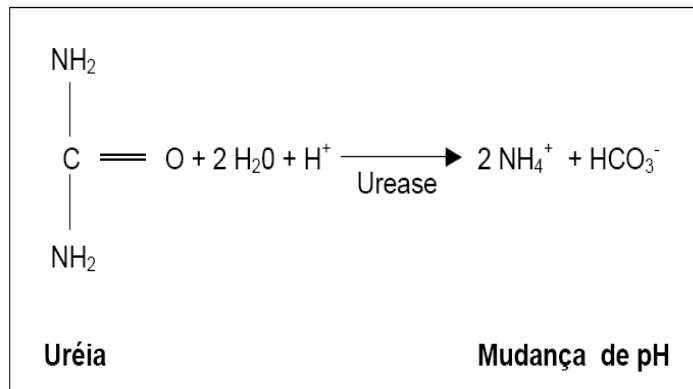


Figura 3: Reação de hidrólise da uréia pela urease

- Motilidade - devido ao fato de apresentar estrutura espiralada e até 6 flagelos em sua extremidade, a bactéria apresenta grande motilidade, o que lhe confere a capacidade de rapidamente migrar da luz gástrica (ambiente ácido) para a camada de muco que recobre o epitélio gástrico (ambiente neutro) (30);
- Indução de hipocloridria – a infecção aguda está acompanhada por hipocloridria transitória. O mecanismo não está completamente esclarecido, mas os possíveis mediadores são lipopolissacarídeos e proteínas inibidoras de ácido (35).
- Aderência - sua superfície externa é recoberta por uma molécula de adesão que se liga a receptores específicos das células epiteliais gástricas (34);
- Outras enzimas produzidas pela bactéria - tais como superóxido dismutase, catalase e arginase, as quais conferem proteção contra a atividade lítica de macrófagos e neutrófilos, impedindo uma resposta eficaz do hospedeiro (30).

1.2.4.2 Fatores que induzem lesão tecidual – Uma vez aderido à célula epitelial gástrica, o *Helicobacter pylori* pode causar dano a essa através da fosfolipase, da mucinase, da urease, da produção de amônia, assim como através de outros mecanismos relacionados a fatores patogênicos da bactéria, cujos principais são as proteínas denominadas VacA, CagA, IceA e BabA. (34)

- Fosfolipase e mucinase: promovem a ruptura da membrana mucosa gástrica (28).
- Urease: tem efeito tóxico sobre as células epiteliais gástricas e indução de citocinas inflamatórias (28).
- Amônia: o hidróxido de amônia gerado pela hidrólise da uréia é capaz de ocasionar dano histológico (30).
- VacA: é o produto do gene *vacA*. Embora esse gene esteja presente em todas as linhagens de *Helicobacter pylori*, somente 50 a 60% dessas produzem a proteína ativa e, conseqüentemente, expressam maior patogenicidade. Esse gene apresenta duas porções variáveis, sendo que a combinação dos alelos da região m – média (m1 e m2) - com os da região s – peptídeo sinal (s1a, s1b, s1c ou s2) - determina a produção de uma proteína com total (s1a/m1), moderada (genótipos intermediários) ou nenhuma (s2/m2) atividade. Esta proteína é capaz de induzir múltiplos efeitos, tais como vacuolização celular, apoptose e imunomodulação (36).
- CagA: aproximadamente 60-80% das linhagens de *Helicobacter pylori* expressam um antígeno imunodominante de alto peso molecular, cujo tamanho varia de 128 a 152 Kd, conhecido como CagA, sendo que esse é o produto do gene *cagA*, que reside na *cag*-PAI. O gene *cagA* apresenta uma região 5' altamente conservada e uma região 3' com número variável de seqüências repetitivas, o que leva a uma

variação do comprimento da proteína. Como a proteína CagA atua como um antígeno altamente imunogênico, qualquer variação no seu comprimento pode levar a diferentes respostas no hospedeiro (30). As linhagens de *Helicobacter pylori* que expressam a proteína CagA estão associadas ao desenvolvimento de úlcera gástrica (37,38) e duodenal (37,39), gastrite atrófica (40-44), metaplasia intestinal (40,41,44,45) e câncer gástrico (37,45-49).

- IceA: é o produto do gene *iceA* e este apresenta 2 variações alélicas: *iceA1* e *iceA2*. O alelo *iceA1* apresenta correlação com linhagens mais patogênicas, estando associado à úlcera péptica e ao câncer gástrico. Sua expressão é regulada pelo contato do *Helicobacter pylori* com as células epiteliais gástricas (30).
- BabA: esta molécula de adesão é o produto do gene *babA*. O gene *babA* apresenta 2 alelos distintos: *babA1* e *babA2*, entretanto somente o produto do gene *babA2* exibe atividade de ligação ao antígeno de Lewis e relação com úlcera péptica e câncer gástrico (30).

1.2.5 Métodos diagnósticos

1.2.5.1 Métodos não-invasivos (28, 50) – testes diagnósticos que não requerem a realização de endoscopia digestiva alta. Sendo estes:

- Testes sorológicos: avalia a presença de anticorpos contra o *Helicobacter pylori*, uma vez que a infecção ocasiona resposta imunológica local e sistêmica. Sua principal limitação é o fato de permanecer positivo por longos períodos após a erradicação do microrganismo, não tendo indicação para

controle pós-tratamento. Apresenta baixo custo, sendo amplamente disponível. Sensibilidade de 88-95% e especificidade de 86-95%.

- Testes respiratórios com uréia marcada com carbono 13 ou 14: quando um paciente infectado ingere a uréia marcada, esta é hidrolisada pela urease, formando amônia, que, ao ser metabolizada, produz dióxido de carbono, o qual é liberado na circulação e detectado no ar exalado. É especialmente útil para controle após terapia antimicrobiana para erradicação do *Helicobacter pylori*. Sensibilidade de 90-100% e especificidade varia de 80-99% com carbono 13 e de 92-100% com carbono 14.
- Detecção de antígenos fecais: uso de anticorpos monoclonais ou policlonais para detecção do *Helicobacter pylori*. Em diferentes estudos, a sensibilidade varia de 58-96% e a especificidade é superior a 90%.
- PCR: sua aplicação tem estado limitada a estudos científicos, podendo ser realizado a partir de saliva, placa dentária e fezes, com sensibilidade de 22,2%, 25,7% e 35% e especificidade de 99,1%, 98,2% e 98%, respectivamente.

1.2.5.2 Métodos invasivos (28,50) – testes diagnósticos que requerem a realização de endoscopia digestiva alta. Sendo estes:

- Exame histopatológico: apesar do elevado custo, apresenta ampla disponibilidade, além de acrescentar informações histopatológicas. As colorações com melhor desempenho para avaliar o processo inflamatório e para identificar a bactéria são as técnicas de Genta e de Giemsa. Sensibilidade de 93-98% e especificidade de 95-98%.

- Teste rápido da urease: consiste na colocação de fragmentos de mucosa gástrica em frasco com uréia e corante sensível ao pH. Se a biópsia gástrica contiver *Helicobacter pylori*, a urease produzida pela bactéria converterá a uréia em amônia, provocando alteração do pH, com alcalinização do meio e conseqüente modificação da cor do indicador. Apresenta custo relativamente baixo. Apresenta sensibilidade de 89-98% e especificidade de 93-98%.
- Cultura: uso limitado devido ao alto custo, a baixa disponibilidade e ao longo tempo necessário a sua realização (3 a 6 dias). Sua maior vantagem é a capacidade de avaliar a sensibilidade bacteriana aos antibióticos. Sensibilidade de 77 a 95% e especificidade de 100%.
- PCR: realizado geralmente a partir de amostras de biópsias gástricas. Os genes utilizados para derivar os oligonucleotídeos são principalmente os genes da urease (*ureA* e *ureC*), 16S-rRNA ou regiões aleatórias do DNA cromossomal. Esses genes estão presentes em todas as linhagens do *Helicobacter pylori*. PCR apresenta utilidade, ainda, pela possibilidade de determinar o grau de patogenicidade da bactéria através da genotipagem molecular. É um método diagnóstico de alto custo, cuja sensibilidade é de 96-100% e a especificidade, de 100%.

1.2.6 Doenças associadas à infecção por *Helicobacter pylori*

Uma vez ocorrendo a infecção aguda por *Helicobacter pylori*, quase todos os pacientes evoluirão com gastrite crônica, sendo que, a maioria destes, permanecerão assintomáticos ao longo de suas vidas. Menos de 20% dos pacientes com infecção crônica

desenvolverá úlcera péptica e uma pequena porcentagem desenvolverá adenocarcinoma gástrico e linfoma gástrico (51).

O desfecho da infecção por *Helicobacter pylori* possivelmente esteja relacionado à severidade e ao padrão de gastrite induzido pela bactéria. Segundo esta hipótese, os casos de infecção por *Helicobacter pylori* que envolvam predominantemente o antro, predisporiam à úlcera duodenal, enquanto que, nos casos de infecção predominante em corpo, haveria uma maior probabilidade de evolução para atrofia gástrica, com predisposição ao desenvolvimento de úlcera gástrica e câncer gástrico (51).

- Dispepsia não-ulcerosa: devido à alta prevalência da gastrite pelo *Helicobacter pylori* e da dispepsia não-ulcerosa, as duas situações são freqüentemente encontradas em um mesmo indivíduo, não estando bem definido se existe relação causal entre as duas condições. Porém, vem sendo demonstrado que, em pacientes com dispepsia não-ulcerosa infectados pelo *Helicobacter pylori*, há um pequeno, mas estatisticamente significativo, efeito de melhora clínica ao ser erradicada a bactéria (52).
- Úlcera péptica: o papel da infecção por *Helicobacter pylori* na doença ulcerosa péptica está bem estabelecido, estando presente em cerca de 70% dos casos de úlcera gástrica e em mais de 90% dos casos de úlcera duodenal. A erradicação da infecção está associada a maiores taxas de cura, assim como, redução da recidiva da doença (52).
- Adenocarcinoma gástrico - A associação entre infecção por *Helicobacter pylori* e adenocarcinoma gástrico baseia-se em estudos epidemiológicos de larga escala. Foi postulado que a seqüência de eventos no adenocarcinoma

gástrico tipo intestinal é a seguinte: infecção por *Helicobacter pylori*, gastrite crônica, gastrite atrófica, metaplasia intestinal, displasia e adenocarcinoma. O câncer gástrico tipo difuso também está associado com infecção por *Helicobacter pylori*, porém, não sendo demonstrada associação com gastrite atrófica (53).

- Linfoma gástrico tipo MALT: normalmente, o estômago é desprovido de tecido linfóide sendo que este pode ser adquirido na presença de infecção por *Helicobacter pylori*. Há evidências de que a infecção por esta bactéria preceda o desenvolvimento de linfoma gástrico tipo MALT. A erradicação da infecção por *Helicobacter pylori* tornou-se o tratamento inicial desta neoplasia, ocasionando remissão em cerca de 70% dos casos, assim como desfecho favorável em longo prazo na maioria destes pacientes, oferecendo assim uma real possibilidade de cura (53).
- Doenças extra-gástricas: outras patologias extra-gástricas têm sido associadas à infecção por *Helicobacter pylori*, tais como: doença arterial coronariana e cerebrovascular, Fenômeno de Reynaud, enxaqueca, púrpura trombocitopênica auto-imune, retardo de crescimento, anemia ferropriva, rosácea e urticária crônica. Porém são necessários novos estudos para melhor definição destas associações (51).

1.2.7 Indicações de erradicação

Atualmente, as indicações para erradicação do *Helicobacter pylori* são: úlcera péptica gástrica ou duodenal (54, 55), linfoma MALT (54, 55), história de câncer gástrico em

familiar de primeiro grau ⁽⁵⁴⁾, após ressecção de câncer gástrico precoce ⁽⁵⁴⁾, após cirurgia para câncer gástrico avançado em pacientes submetidos à gastrectomia parcial ⁽⁵⁵⁾, gastrite histológica intensa ⁽⁵⁵⁾, gastrite atrófica ⁽⁵⁴⁾ e vontade do paciente ⁽⁵⁴⁾. As indicações relativas incluem pacientes com risco de úlcera péptica que realizarão tratamento com AINE ou AAS ⁽⁵⁵⁾, doença do refluxo gastro-esofágico que necessite longos períodos de supressão ácida e dispepsia funcional ⁽⁵⁴⁾.

1.2.8 Tratamento

O tratamento “ideal” deve alcançar taxas de cura superiores a 80%. O regime mundialmente mais utilizado é: Inibidor de bomba protônica (IBP) + amoxicilina 1,0 g + claritromicina 500 mg, duas vezes ao dia, durante 7 dias.

O II Consenso Brasileiro sobre *Helicobacter pylori* ⁽⁵⁵⁾ ainda recomenda outros dois regimes:

- IBP uma vez ao dia + claritromicina 500 mg duas vezes ao dia + furazolidona 200 mg, duas vezes ao dia, durante 7 dias.
- IBP uma vez ao dia + furazolidona 200 mg três vezes ao dia + cloridrato de tetraciclina 500 mg, quatro vezes ao dia, durante 7 dias.

1.3 *Helicobacter pylori* e câncer gástrico

Pacientes com infecção por *Helicobacter pylori* apresentam risco aumentado de desenvolvimento de gastrite crônica atrófica e de metaplasia intestinal gástrica, quando comparados com pacientes não infectados. Estudo que avaliou a evolução da gastrite por

Helicobacter pylori (média de acompanhamento de 11,5 anos) verificou que 28% dos pacientes infectados desenvolveram gastrite atrófica e metaplasia intestinal, enquanto que apenas 4% dos indivíduos não infectados desenvolveram estas lesões (OR=9,0) ⁽⁵⁶⁾. Há evidências de que a erradicação da bactéria possa acarretar regressão da atrofia em 89% e da metaplasia em 61% dos pacientes ⁽⁵⁷⁾.

Uemura et al ⁽⁵⁸⁾, em estudo prospectivo que acompanhou 1526 pacientes por um período médio de 7,8 anos, relataram o desenvolvimento de câncer gástrico em 2,9% dos indivíduos com infecção pelo *Helicobacter pylori*, e constataram que não houve casos de câncer gástrico naqueles pacientes sem infecção.

Nos indivíduos *Helicobacter pylori*-positivos, a incidência cumulativa estimada de câncer gástrico ao longo da vida é de 2,2% para os homens e de 0,9% para as mulheres, comparada com 0,4% e 0,2%, respectivamente, para aqueles nunca infectados ⁽⁵⁹⁾.

Conforme dados de meta-análise ⁽⁶⁰⁾ sobre a relação entre soropositividade para *Helicobacter pylori* e câncer gástrico, a razão de chances para pacientes infectados é de 1,92, sendo que esta sobe quanto mais jovem for o paciente (OR = 9,29 em pacientes com idade \leq 29 anos) e quanto mais precoce for a neoplasia (OR = 6,35 em pacientes com câncer gástrico precoce). Esses achados se devem, provavelmente, ao fato da prevalência de infecção por *Helicobacter pylori* aumentar com a idade ^(33,60), além de que, com o desenvolvimento de gastrite atrófica severa e de metaplasia intestinal, ocorre uma perda da colonização gástrica pela bactéria ⁽⁶⁰⁻⁶⁴⁾. Há associação tanto com câncer gástrico do tipo intestinal quanto com o do tipo difuso, sem diferença estatisticamente significativa entre esses. Contudo, está associado apenas com adenocarcinoma gástrico distal (OR = 3,08), sem relação com adenocarcinoma de cárdia (OR = 1,23/ IC 95%, 0,56-2,71) ⁽⁶⁰⁾.

Apesar de o método sorológico (pesquisa de anticorpos IgG anti-*Helicobacter pylori*) ter uma boa sensibilidade e especificidade nos pacientes em geral (65,66), ocorrem falso-negativos com maior frequência nos pacientes com neoplasia gástrica (67), além de que, naqueles que tenham perdido a colonização gástrica pelo *Helicobacter pylori* (pelo fato de a bactéria não colonizar epitélio severamente atrófico ou com metaplasia intestinal (63,64)), poderá ocorrer a soroconversão espontânea, não se detectando os anticorpos IgG após um período de 6 meses (25).

Estudo de Queiroz et al. (67) demonstrou que a combinação de vários métodos é superior à sorologia isolada na identificação de infecção por *Helicobacter pylori* associada ao câncer gástrico. Assim, a associação entre *Helicobacter pylori* e câncer gástrico pode estar sendo subestimada em estudos que utilizem apenas a sorologia para determinar esta associação.

No entanto, a presença de infecção pelo *Helicobacter pylori* não é um fator que, isoladamente, possa levar ao desenvolvimento de câncer gástrico, uma vez que nem todos os indivíduos infectados desenvolvem a neoplasia e as taxas de câncer gástrico são baixas em alguns países onde as taxas de infecção pelo *Helicobacter pylori* são altas. Possíveis justificativas para esses achados incluem diferenças na genética dos hospedeiros, como variações da acidez gástrica e polimorfismos das citocinas pró-inflamatórias, além de fatores ambientais e da existência de diferentes linhagens de *Helicobacter pylori* com diferentes graus de virulência (59).

1.4 *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e câncer gástrico

A *cag*-PAI é composta por 31 genes, alguns dos quais responsáveis pela codificação de componentes do sistema secretor tipo IV. Esse sistema é derivado de uma antiga estrutura flagelar que agora é usada para formar um túbulo através do qual a proteína CagA é transferida à célula epitelial gástrica, permitindo que a bactéria module vias do metabolismo celular da célula hospedeira (68) (Figura 4). Uma vez no interior da célula, a fosforilação da proteína CagA leva a uma desregulação das vias da proteína SHP2, da ERK quinase e das proteínas AP-1, com efeitos semelhantes aos induzidos pelo fator de crescimento, ocasionando uma desregulação das funções das células epiteliais, induzindo uma hiperproliferação celular e promovendo a transformação do seu fenótipo celular, um importante pré-requisito para uma transformação neoplásica (69) (Figura 5).

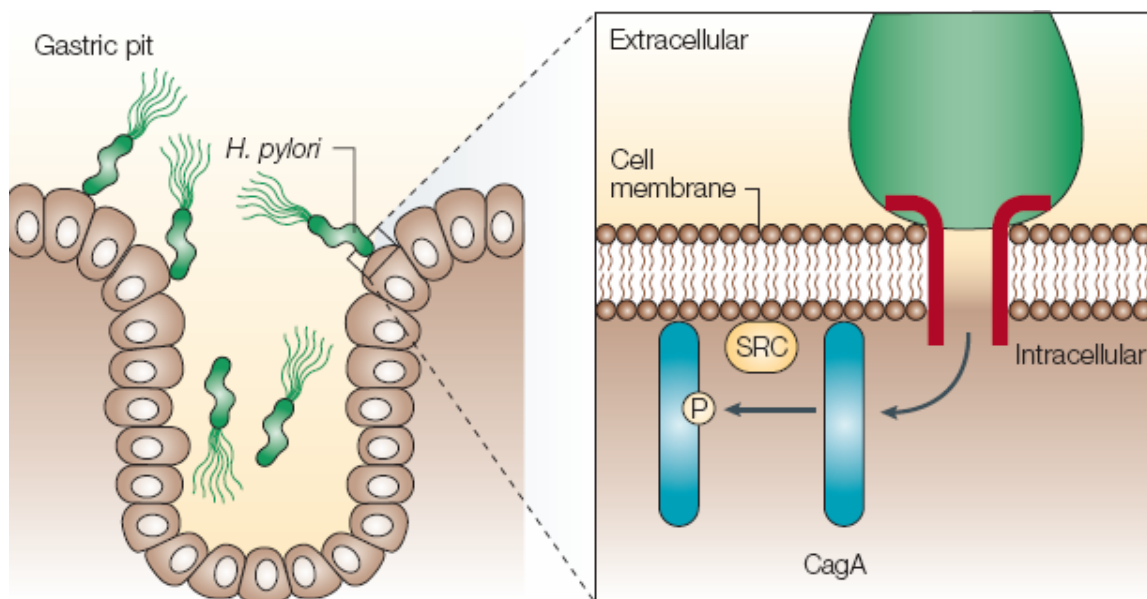


Figura 4 – Interação entre *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e a célula epitelial gástrica (69)

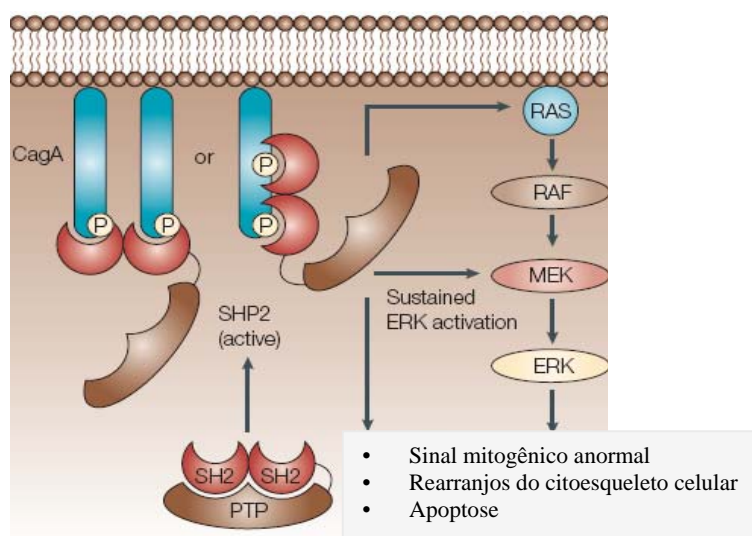


Figura 5 – Desregulação das funções das células epiteliais gástricas pelo antígeno CagA (69)

A proteína CagA também induz a secreção de interleucina (IL)-8 pelas células epiteliais. A IL-8 atrai neutrófilos que migram dos capilares para a lâmina própria e emergem entre as células epiteliais, ocasionando uma resposta inflamatória intensa e produção de radicais livres de oxigênio. Esses radicais livres podem induzir alteração da expressão de proto-oncogenes, bem como gerar produtos genotóxicos capazes de interagir com alvos moleculares do DNA, causando dano ao DNA das células adjacentes (34).

Em meta-análise sobre a relação entre soropositividade para CagA e câncer gástrico, a prevalência de soropositividade para o antígeno CagA foi de 68,2% nos casos e de 37,5% nos controles (OR = 2,87), sendo que, quando foram avaliadas apenas as populações de indivíduos *Helicobacter pylori*-positivos, a prevalência de infecção por linhagem CagA-positiva foi de 73,5% nos casos e de 61,3% nos controles (OR = 1,64) (70).

A infecção por esta linhagem específica de *Helicobacter pylori* pode ser detectada tanto por métodos sorológicos (ELISA e Immunoblot) para detecção de anticorpos IgG e

IgA anti-CagA, quanto através de métodos moleculares (PCR) para detecção do gene *cagA*. Tanto a proteína CagA quanto o gene *cagA* indicam a presença da *cag*-PAI.

Porém, segundo estudo de Rocha et al (71), nos pacientes cujo gene *cagA* foi identificado por PCR, a sensibilidade do teste sorológico para detecção do antígeno CagA pelo método ELISA foi de apenas 75% nos pacientes com câncer gástrico, contra 97,4% na população sem essa neoplasia.

2. Justificativa

A associação entre infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e câncer gástrico já foi investigada em outros estudos caso-controle, porém, sabe-se que existe diferença nas características populacionais nos diferentes países e, inclusive, nas diferentes regiões do Brasil. Tendo em vista que nenhum estudo nesse assunto foi previamente realizado no Rio Grande do Sul, torna-se necessário avaliar se, em nosso meio, os indivíduos com infecção pela linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori* apresentam risco aumentado de desenvolver esta neoplasia.

3. Objetivos

3.1 Objetivo principal

Investigar a associação, em nosso meio, entre infecção pelo *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e câncer gástrico.

3.2 Objetivo secundário

Avaliar a prevalência de infecção pelo *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva em pacientes com e sem neoplasia gástrica, submetidos à endoscopia digestiva alta no Hospital Nossa Senhora da Conceição, em Porto Alegre /RS.

4. Amostra e métodos

4.1 Delineamento do estudo: Estudo caso-controle, com pareamento por sexo e por idade (sendo incluídos no grupo controle pacientes até 5 anos mais jovens ou 5 anos mais velhos que os respectivos pares do grupo caso).

4.2 População estudada: Pacientes encaminhados para a realização de endoscopia digestiva alta no Hospital Nossa Senhora da Conceição, em Porto Alegre/RS.

4.2.1 Casos

Critérios de inclusão:

- Pacientes com diagnóstico histopatológico de adenocarcinoma gástrico feito a partir de biópsias gástricas obtidas através de endoscopia digestiva alta;
- Idade ≥ 18 anos;
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Distúrbios da coagulação;
- Hemorragia digestiva alta;
- História de antibioticoterapia nos últimos 6 meses;
- História de gastrectomia subtotal ou total;
- Diagnóstico de neoplasia gástrica estabelecido há mais de 6 meses.

4.2.2 Controles

Critérios de inclusão:

- Pacientes submetidos à realização de endoscopia digestiva alta, cujo diagnóstico não seja câncer gástrico;
- Idade ≥ 18 anos;
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Distúrbios da coagulação;
- Hemorragia digestiva alta;
- História de antibioticoterapia nos últimos 6 meses;
- História de gastrectomia subtotal ou total.

4.3 Coleta de dados

Em todos os casos e em todos os controles foram realizadas biópsias gástricas de corpo e de antro, para realização de:

- Teste da urease:

Uma biópsia de antro e uma biópsia de corpo foram colocadas em teste de urease pré-formada (Laborclin, Paraná, Brasil) e os resultados interpretados em 2 a 24h;

- Exame histopatológico para pesquisa de *Helicobacter pylori*:

Realizado a partir de 2 biópsias de antro, 1 biópsia de incisura angularis e 2 biópsias de corpo. As amostras histológicas foram coradas pelas técnicas de H&E e Giemsa;

- PCR para detecção do *Helicobacter pylori* (genes 16S-rRNA e *ureA*) e do gene *cagA*:

Realizado a partir de 1 biópsia de antro. Essa biópsia foi armazenada em frasco Eppendorf em NaCl 0,9% (-70°C) até a realização do PCR. PCR para os genes *ureA* e 16S-rRNA e para o gene *cagA* foram realizados conforme técnica descrita por Rota et al (39), utilizando os primers:

- ✓ HPU18N (5'-CCCATTTGACTCAATGCGATG-3') e HPU54N (5'-TGGGATTAGCGAGTATGTCCG-3') para amplificar um produto de 132-pb do 16S-rRNA;
- ✓ UREA1 (5'-GCCAATGGTAAATTAGTT-3') e UREA2 (5'-CTCCTTAATTGTTTTTAC-3') para amplificar um produto de 394-pb do gene *ureA*;
- ✓ CagA/ConF (5'-GTGCCTGCTAGTTTGTTCAGCG-3') e CagA/Con-R (5'-TTGGAAACCACCTTTTGTATTAGC-3'), para amplificar um produto de 402-pb do gene *cagA*.

Foram considerados *Helicobacter pylori*-positivos os pacientes nos quais foram detectados os genes *ureA*, 16S-rRNA ou *cagA* por PCR e /ou apresentaram 2 outros métodos

de detecção do *Helicobacter pylori* com resultado positivo. Foram considerados *cagA*-positivos aqueles nos quais foi detectado o gene *cagA* por PCR.

Nos pacientes que pertenciam ao grupo caso também foram realizadas biópsias gástricas para o diagnóstico histopatológico de adenocarcinoma, e a neoplasia foi classificada quanto à localização e ao tipo histológico:

Localização:

➤ Câncer da cárdia:

Definido como uma lesão cujo centro seja localizado dentro de 1,0 cm proximal e 2,0 cm distais à junção esôfago-gástrica (72).

➤ Câncer do estômago distal:

Definido como uma lesão cujo centro seja localizado a partir de 2,0 cm distais à junção esôfago-gástrica até o piloro.

Tipo histológico: foi utilizada a classificação de Lauren (73).

➤ Tipo intestinal:

Características morfológicas e bioquímicas de epitélio intestinal, sendo geralmente derivado de ou associado com gastrite crônica atrófica e com metaplasia intestinal. Geralmente, trata-se de adenocarcinoma bem diferenciado. Macroscopicamente, o tumor forma massas, com limites relativamente bem definidos. É mais freqüente nos pacientes de idade avançada e do sexo masculino.

➤ Tipo difuso:

É menos freqüentemente associado com gastrite crônica atrófica e com metaplasia intestinal. Geralmente, trata-se de adenocarcinoma pouco diferenciado, em que as células crescem isoladamente sem compor padrão glandular. As células geralmente armazenam secreção mucípara no citoplasma, com conseqüente deslocamento do núcleo para a periferia. O tumor não forma massas bem definidas, apresenta limites imprecisos e freqüentemente tem estroma fibroso abundante. Geralmente apresenta-se em indivíduos de idade mais jovem.

➤ Tipo indeterminado:

Estrutura mista.

4.4 Cálculo da amostra

A amostra mínima estimada para estabelecer uma diferença na taxa de infecção pela linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori* entre os pacientes com e sem câncer gástrico foi de 29 casos e 58 controles. Esse cálculo foi realizado com base numa prevalência de infecção pela linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori* de 64% nos casos e de 30% nos controles, considerando-se as seguintes variáveis: intervalo de confiança (IC) de 95%, poder do estudo de 80%, relação caso/ controle 1:2.

4.5 Análise estatística

Os dados foram analisados usando o programa SPSS, versão 10.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill.). Variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste X², por teste exato de

Fischer ou por correção de Yates, havendo significância com um $p < 0,05$. Variáveis contínuas foram avaliadas através de teste t de Student. Foi utilizada a razão de chances (OR) para medida de associação.

5. Resultados

5.1 Grupo caso

Foi incluído no grupo caso um total de 29 pacientes, com uma relação entre sexo masculino e feminino de 1,64 : 1 (Tabela 1). A média de idade foi de 65,8 anos (30-89), sendo que 25 pacientes (86,2%) apresentavam idade igual ou superior a 50 anos.

Entre as mulheres, a média de idade foi de 61,9 anos (30-84), 72% apresentando idade igual ou superior a 50 anos, enquanto que, entre os homens, a média de idade foi de 68,2 anos (48-89), 95% apresentando idade igual ou superior a 50 anos. A média de idade entre os dois sexos não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,114$) (Gráfico 1).

Todos os pacientes tinham diagnóstico de adenocarcinoma gástrico distal, sendo que 16 pacientes apresentavam adenocarcinoma do tipo intestinal (55,2%), 8 do tipo difuso (27,6%) e 5 do tipo indeterminado (17,2%) (Tabela 1).

Enquanto nos indivíduos do sexo masculino a classificação histológica mais frequente foi adenocarcinoma tipo intestinal - 12 pacientes (66,7%), no sexo feminino, foi adenocarcinoma tipo difuso – 6 pacientes (54,5%) ($p=0,039$).

A média de idade dos pacientes com adenocarcinoma tipo intestinal foi de 67,1 anos (48-84) e daqueles com o tipo difuso foi de 56,5 anos (30-87) ($p=0,089$).

Dos 29 pacientes com adenocarcinoma gástrico, 20 (68,9%) eram *Helicobacter pylori*-positivos e 18 (62,1%) tinham infecção por linhagem *cagA*-positiva (Tabela 1). Nos indivíduos do sexo feminino, 8 (72,7%) apresentaram diagnóstico de infecção por *Helicobacter pylori* e 7 (63,64%) por linhagem *cagA*-positiva, enquanto que, no sexo

masculino, 12 (66,7%) apresentaram diagnóstico de infecção por *Helicobacter pylori* e 11 (61,1%) por linhagem *cagA*-positiva.

A sensibilidade e a especificidade dos métodos de detecção do *Helicobacter pylori* nos pacientes do grupo caso estão descritos na tabela 2.

5.2 Grupo controle

Foi incluído no grupo controle um total de 58 pacientes, com uma média de idade de 64,1 anos (26-86). A média de idade foi de 60,8 anos (26-85) entre as mulheres, e de 66,1 anos (46-86) entre os homens.

Os achados endoscópicos foram: exame normal (11 pacientes), gastrite enantematosa (14 pacientes), gastrite erosiva (13 pacientes), duodenite erosiva (5 pacientes), úlcera gástrica (11 pacientes) e úlcera duodenal (4 pacientes) (Tabela 1).

Na avaliação histopatológica, foi identificada uma frequência mais baixa de presença de atrofia e/ou metaplasia intestinal gástrica nos pacientes com gastrite e/ou duodenite erosiva, quando comparado aos demais pacientes do grupo controle (OR=0,11; IC 95% 0,02-0,51) (Tabela 3). Apesar da frequência de infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva ter sido mais alta nos pacientes com atrofia e/ou metaplasia intestinal gástrica (43,48%), quando comparado àqueles sem estas alterações histopatológicas (25,71%), esta diferença não atingiu significância estatística (OR=2,222; IC 95% 0,739-6,692).

Dos 58 pacientes, 40 (68,9%) eram *Helicobacter pylori*-positivos e 17 (29,3%) tinham infecção por linhagem *cagA*-positiva (Tabela 1). Nos indivíduos do sexo feminino,

15 (68,2%) apresentaram diagnóstico de infecção por *Helicobacter pylori* e 5 (22,7%) por linhagem *cagA*-positiva, enquanto que no sexo masculino, 25 (69,4%) apresentaram diagnóstico de infecção por *Helicobacter pylori* e 12 (33,3%) por linhagem *cagA*-positiva.

Quando avaliamos a frequência de infecção pela linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori* segundo os achados endoscópicos, verificamos que essa é significativamente mais baixa nos pacientes com gastrite e/ou duodenite erosivas quando comparado aos demais pacientes do grupo controle, ocorrendo em 11,1% e em 37,5% desses, respectivamente (OR=0,21; IC95% 0,047-0,944) (Tabela 1).

A sensibilidade e a especificidade dos métodos de detecção do *Helicobacter pylori* nos pacientes do grupo controle estão descritos na tabela 2.

5.3 Grupo caso x grupo controle

A porcentagem de pacientes com infecção por *Helicobacter pylori* foi idêntica nos dois grupos (68,9%).

A sensibilidade dos métodos de detecção do *Helicobacter pylori*, com exceção do método de PCR, é significativamente mais baixa nos pacientes com câncer gástrico (Tabela 2).

Quando avaliamos a presença de infecção pela linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori*, verificamos que a frequência dessa é significativamente mais alta no grupo caso (62,1%), quando comparada com o grupo controle (29,3%) (OR=3,95; IC 95% 1,543-10,096) (Gráfico 2 e Tabela 4).

Ao avaliarmos apenas os pacientes *Helicobacter pylori*-positivos, a frequência de infecção por linhagem *cagA*-positiva também é mais elevada no grupo caso (90%), quando comparado com o grupo controle (42,5%) (OR=12,18; IC 95% 2,71-52,9) (Gráfico 3 e Tabela 5).

Tabela 1 – Características dos pacientes dos grupos caso e controle

	n	Masculino/feminino	Média de idade	<i>H. pylori</i> + n (%)	<i>cagA</i> + n (%)
Grupo caso	29	18/11	65,8	20 (68,9%)	18 (62,1%)
Tipo intestinal	16	12/4	67,1	10 (62,5%)	9 (56,2%)
Tipo difuso	8	2/6	56,5	6 (75%)	5 (62,5%)
Tipo indeterminado	5	4/1	76,6	4 (80%)	4 (80%)
Grupo controle	58	36/22	64,1	40 (68,9%)	17 (29,3%)
Exame normal ou gastrite enantematosa	25	16/9	66,8	17(68%)	9 (36%)
Gastrite e/ou duodenite erosiva	18	10/8	59,8	11 (61,1%)	2 (11,1%)
Úlcera péptica	15	10/5	64,7	12 (80%)	6 (40%)

Gráfico 1 - Distribuição dos casos de câncer gástrico por sexo e por faixa etária

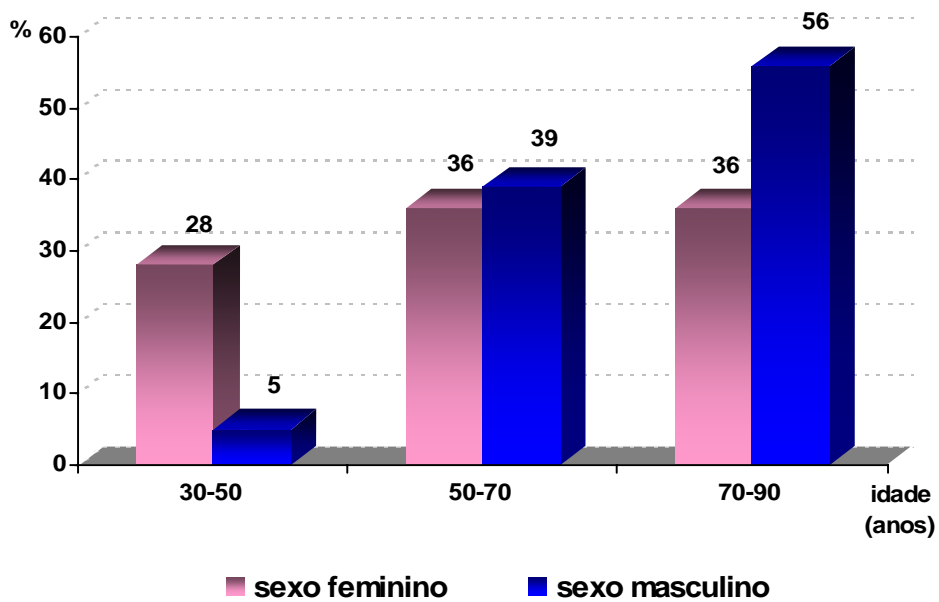


Tabela 2 – Sensibilidade e especificidade dos métodos invasivos para detecção do *Helicobacter pylori* nos pacientes dos grupos caso e controle

	Grupo caso		Grupo controle	
	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)
PCR para <i>Helicobacter pylori</i> e gene <i>cagA</i>	100 (90,9-100)	100 (79,6-100)	96,6 (89,9-96,6)	100 (78,7-100)
Histopatológico	38,9 (27,7-38,9)	100 (74,7-100)	72,4 (63,8-75,2)	88,9 (61,2-98)
Teste da urease	44,4 (32,3-54,4)	62,5 (35,2-84,9)	82,8 (75,1-82,8)	100 (75,4-100)

Tabela 3 - Frequência de atrofia e/ou metaplasia intestinal gástrica nos pacientes do grupo controle

	n	atrofia e/ou MIG n (%)
Exame normal ou gastrite enantematosa	25	14 (56%)
Gastrite e/ou duodenite erosiva	18	2 (11,1%)
Úlcera péptica	15	7 (40%)

Gráfico 2 - Distribuição do status de infecção pelo *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva

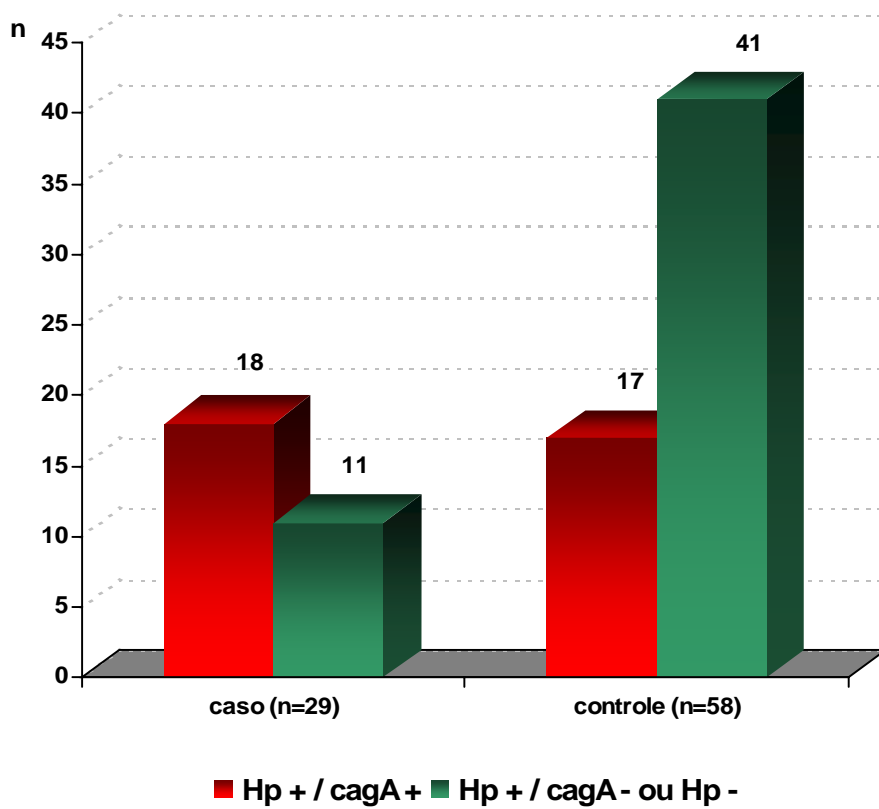


Tabela 4 – Risco de adenocarcinoma gástrico distal de acordo com o status de infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva

	casos		controles		OR (IC 95%)
	cagA+	cagA-	cagA+	cagA-	
Todos pacientes	18	11	17	41	3,95(1,54-10,09)
sexo feminino	7	4	5	17	5,95 (1,28-27,73)
sexo masculino	11	7	12	24	3,14 (0,99-9,95)

Gráfico 3 - Distribuição do status de infecção pela linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori* – subgrupo com infecção por *Helicobacter pylori*

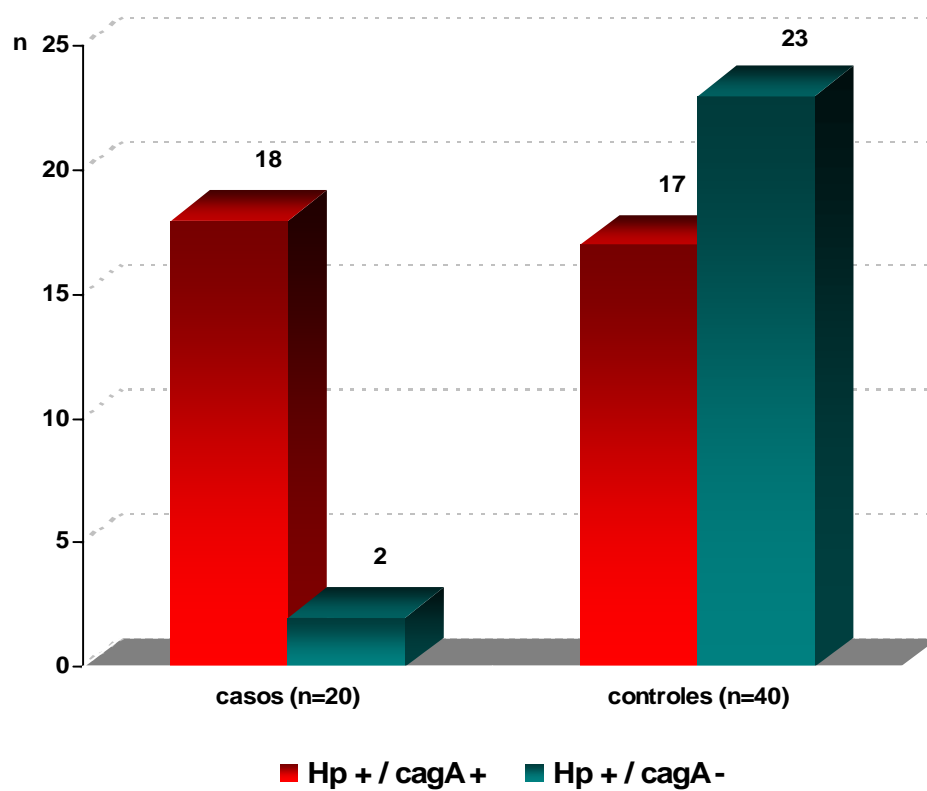


Tabela 5 - Risco de adenocarcinoma gástrico distal de acordo com o status de infecção por linhagem *cagA*-positiva em pacientes *Helicobacter pylori*-positivos

	<i>Helicobacter pylori</i> +		OR (IC 95%)
	casos	controles	
n	20	40	
<i>cagA</i> +	18	17	12,18(2,71-52,9)

6 Discussão

Apesar de o *Helicobacter pylori* colonizar o estômago de cerca de metade da população mundial, apenas 1-2% dos pacientes infectados evoluirão para o câncer gástrico. Fatores relacionados ao hospedeiro e fatores ambientais são considerados importantes para o desenvolvimento dessa neoplasia, porém genótipos específicos do *Helicobacter pylori* têm sido associados com apresentações mais virulentas dessa bactéria.

Vários estudos caso-controle, em diversos países, já investigaram a associação entre infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e câncer gástrico, inclusive na região sudeste do Brasil. Apesar de alguns estudos não demonstrarem essa associação (74,75), verifica-se, na literatura, uma maior concordância de que ela exista (15, 49, 76-82).

Os resultados do presente estudo demonstram que a infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva está associada significativamente com adenocarcinoma gástrico distal.

Quando comparamos apenas os pacientes *Helicobacter pylori*-positivos nos dois grupos, identificamos uma associação ainda mais forte entre infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e câncer gástrico, demonstrando que, uma vez identificada a infecção por *Helicobacter pylori*, a maioria dos pacientes com câncer gástrico apresenta infecção por linhagem *cagA*-positiva. Esse achado possivelmente seja decorrente da incapacidade dos métodos diagnósticos utilizados de identificar aqueles pacientes que apresentaram infecção no passado. Parcela significativa dos pacientes com câncer gástrico perde a colonização pelo *Helicobacter pylori* na evolução da patologia, visto que tecido neoplásico, assim como epitélio gástrico severamente atrófico e/ou com metaplasia intestinal, não são *habitat* adequado para o desenvolvimento desta bactéria.

Brenner et al ⁽⁸³⁾, baseados na hipótese de que a associação entre *Helicobacter pylori* e câncer gástrico possa estar sendo subestimada em outros estudos devido à possível perda da colonização por esta bactéria na evolução desta patologia, desenvolveram estudo caso-controle com avaliação do status da infecção por *Helicobacter pylori* e por linhagem *cagA*-positiva, através de método sorológico, em que vários critérios de exclusão foram utilizados com o objetivo de minimizar potencial viés dessa fonte. Os critérios de exclusão aplicados foram: coleta de sangue para sorologia após 90 dias da realização de gastrectomia; câncer gástrico avançado T4 e soropositividade para o antígeno CagA com soronegatividade para o *Helicobacter pylori*. Aplicando esses critérios de exclusão, a razão de chances para câncer gástrico distal subiu de 3,7 para 18,3 para qualquer linhagem de *Helicobacter pylori* e de 5,7 para 28,4 para a linhagem *cagA*-positiva do *Helicobacter pylori*. Ainda, aplicando estes critérios de exclusão, todos os pacientes com câncer gástrico distal apresentavam infecção por *Helicobacter pylori*.

Tatemich et al ⁽⁸⁴⁾ identificou uma associação estatisticamente significativa entre soronegatividade para *Helicobacter pylori*, soropositividade para o antígeno CagA e câncer gástrico distal. Nesse estudo, 57,6% dos indivíduos pertencentes ao grupo de casos de câncer gástrico brasileiros de origem não-japonesa apresentavam IgG contra antígeno CagA e ausência de IgG contra o *Helicobacter pylori*, situação que foi identificada em 16,7% dos indivíduos sem câncer gástrico.

Esses achados podem ser explicados pelos resultados de Soberg et al ⁽⁸⁵⁾, que demonstraram que, após terapêutica antimicrobiana para erradicação do *Helicobacter pylori*, os níveis de IgG contra a bactéria apresentaram um declínio superior a 50% dos níveis pré-tratamento num período de 6 a 12 meses, enquanto que os níveis de IgG contra o antígeno CagA permaneceram superiores a 50% dos níveis pré-tratamento por até 32

meses. Pode-se supor que os níveis de IgG contra o antígeno CagA também permaneçam por período prolongado após a perda da colonização gástrica pelo *Helicobacter pylori* nos pacientes com câncer gástrico.

Portanto, da mesma forma que a combinação de vários métodos nos auxilia na identificação da infecção por *Helicobacter pylori* associada ao câncer gástrico, possivelmente, também exista superioridade na combinação de métodos para identificação da infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva associada a essa neoplasia.

Na avaliação da relação entre infecção pelo *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e câncer gástrico, a associação de PCR para o gene *cagA* e de pesquisa de anticorpos IgG anti-CagA seria capaz de identificar não apenas aqueles pacientes com infecção atual pelo *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva (situação na qual o PCR apresenta elevada sensibilidade), como também aqueles que apresentaram infecção por essa linhagem num passado recente de até 32 meses (situação que apenas o método sorológico é capaz de detectar).

Verificou-se, ainda, que dentre os pacientes incluídos no grupo controle, houve variações nas taxas de infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva de acordo com o achado endoscópico.

Os pacientes com gastrite e/ou duodenite erosiva apresentaram taxas de infecção por esta linhagem bacteriana significativamente mais baixas que aqueles com úlcera péptica, com exame normal ou com gastrite enantematosas. As possíveis justificativas para esse achado são:

- A reconhecida associação entre infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e úlcera péptica, atrofia e metaplasia intestinal gástrica;

➤ Menor prevalência, encontrada neste estudo, de atrofia e/ou metaplasia intestinal gástrica nos pacientes com gastrite e/ou duodenite erosiva.

Apesar deste estudo não ter sido delineado com o objetivo de determinar a sensibilidade e a especificidade dos métodos diagnósticos da infecção por *Helicobacter pylori*, estas foram avaliadas nos dois grupos. A principal limitação encontrou-se no fato de não ter sido realizada avaliação histopatológica das biópsias gástricas de todos os pacientes por um mesmo patologista.

Quanto à sensibilidade e à especificidade dos métodos diagnósticos utilizados para a detecção do *Helicobacter pylori* nos pacientes incluídos no grupo controle deste estudo (PCR, teste da urease e exame histopatológico), estas foram semelhantes às descritas na literatura em outros estudos que compararam estes três métodos. Em quatro estudos que compararam a sensibilidade e a especificidade do PCR, do teste da urease e do exame histopatológico para diagnóstico de infecção por *Helicobacter pylori* em pacientes sem câncer gástrico, foi identificada uma sensibilidade variando de 93,2% a 100%, 88,6% a 98,3%, 77% a 96%, respectivamente. A especificidade do PCR variou de 96,2% a 100%, do teste da urease de 98,1% a 100% e do histopatológico de 97% a 100% (86-89).

Porém, nos pacientes com câncer gástrico, incluídos em nosso estudo, verifica-se uma sensibilidade bastante baixa para detecção do *Helicobacter pylori* através de teste da urease e de histopatológico, possivelmente em decorrência da menor densidade bacteriana colonizando o estômago desta população de pacientes.

Considerando que, habitualmente, estes são os métodos utilizados na prática médica para detecção desta infecção, este achado tem uma importante repercussão. Como uma porcentagem significativa dos pacientes com câncer gástrico deixa de ter diagnosticada a infecção por *Helicobacter pylori*, naqueles casos de pacientes submetidos à ressecção

endoscópica ou gastrectomia subtotal para tratamento de sua neoplasia, poderá não ser realizado o tratamento para erradicação desta bactéria.

Com base nas evidências de que a erradicação do *Helicobacter pylori* é capaz de ocasionar regressão da atrofia e da metaplasia intestinal gástrica, freqüentemente associadas com adenocarcinoma gástrico, e que estes pacientes apresentam maior risco de desenvolver nova neoplasia, está bem definido que após ressecção de câncer gástrico (em pacientes submetidos a tratamento endoscópico ou gastrectomia parcial) há indicação absoluta para erradicação do *Helicobacter pylori*.

Finalmente, baseado em nossos resultados, o comportamento da infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva reforçou a hipótese de que essa desempenha importante papel na patogênese do câncer gástrico. Assim, deve ser considerada a possibilidade de que a infecção por essa linhagem bacteriana seja um marcador para indivíduos com risco aumentado para desenvolvimento de câncer gástrico distal.

No entanto, para uma mudança de conduta no manejo dos pacientes infectados pelo *Helicobacter pylori*, seria necessário a realização de novos estudos, longitudinais e prospectivos, avaliando o impacto da erradicação da infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva sobre o risco de desenvolvimento de câncer gástrico.

7 Conclusões

- Em nosso meio, existe associação entre infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e adenocarcinoma gástrico distal (OR=3,947; IC 95% 1,543-10,096).
- A prevalência, em Porto Alegre, de infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva nos pacientes com adenocarcinoma gástrico foi de 62,1% e, nos pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta sem câncer gástrico, foi de 29,3%. Entre os pacientes *Helicobacter pylori*-positivos, a prevalência de infecção por essa linhagem bacteriana foi de 90% nos pacientes com adenocarcinoma gástrico e de 42,5% nos pacientes sem câncer gástrico.

8 Referências

1. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer Burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37(8): S4-66.
2. Howson CP, Hiyama T, Wynder E. The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. *Epidemiol Rev* 1986; 8: 1-27.
3. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2005/index.asp?link=tabelaestados.asp&UF=BR>
4. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2005/index.asp?link=tabelaregiones.asp&ID=5>
5. Ohgaki H, Kato T. Study of promoting effect of sodium chloride on gastric carcinogenesis by N-methyl-N-nitro-N-nitroso guanidine in inbred wistar rats. *Gann* 1984, 75:1053-1057.
6. Takahashi M, Kokubo T, Furukawa F. Effects of sodium chloride, saccharin, Phenobarbital and aspirin on gastric carcinogenesis rats after inhibition with N-methyl-N-nitro-N-nitroso guanidine. *Gann* 1984; 75:494-501.
7. Graham S. Epidemiology of retinoids and cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 1984; 73:1423-1428.
8. Risch HA, Jain M, Choi NW, Fodor JG, Pfeiffer CJ, Howe GR, Harrison LW, Craib KJ, Miller AB. Dietary factors and the incidence of cancer of the stomach. *Am J Epidemiol*.1985; 122(6):947-59.
9. Stehr P, Gloninger MF, Kuller LH, Marsh GM, Radford EP, Weinberg GB. Dietary vitamin A deficiencies and stomach cancer. *Am J Epidemiol* 1985; 121:65-70.
10. Weisburger JH. Causes of gastric and esophageal cancer: possible approach to prevention by vitamin C. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research* 1985; 27:381s-402s.

11. Bartsch H, Ohshima H, Pignatelli B. Inhibitors of endogenous nitrosation mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mutation Research* 1988; 202:307-324.
12. Nomura A, Grove JS, Stemmermann GN, Severson RK. A prospective study of stomach cancer and its relation to diet, cigarettes and alcohol consumption. *Cancer Research* 1990; 50: 627-631.
13. Kneller RW, McLaughlin JK, Bjelke E. A cohort study of stomach cancer in a high risk American population. *Cancer* 1991, 68:672-678.
14. Correa P. The gastric microenvironment determines *Helicobacter pylori* colonization. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:1379-81.
15. Ekstrom AM, Held M, Hansson LE, Engstrand L, Nyren O. *Helicobacter pylori* and gastric cancer established by CagA Immunoblot as a marker of past infection. *Gastroenterology* 2001; 121:874-91.
16. Nogueira AM, Ribeiro GM, Rodrigues MA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Barbosa AJ. Prevalence of *Helicobacter pylori* in Brazilian patients with gastric carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1993; 100(3): 236-9.
17. Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Semin Radiat Oncol* 2002; 12(2): 111-27.
18. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Schistosomoses, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 1994; 61:1-241.
19. Correa P, Fox J, Fontham E, Ruiz B, Lin YP, Zavala D, Taylor N, Mackinley D, de Lima E, Portilla H. *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma: serum antibody prevalence in populations with contrasting cancer risks. *Cancer* 1990; 66: 2569-74.

20. Sipponen P, Hyvarinen H. Role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastritis, peptic ulcer and gastric cancer. Scand J Gastroenterol Suppl 1993; 196:3-6.
21. Hoey J, Montvernay C, Lambert R. Wine and tobacco: risk factors for gastric cancer in France. American Journal of Epidemiology 1981; 113:668-674.
22. Dixon MF. Campylobacter pylori and chronic gastritis. In: Rathbone BJ. Campylobacter pylori and gastroduodenal disease. Oxford: Blackwell Scientific 1989; 106:16.
23. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factor. J Clin Epidemiol 2002; 56:1-9
24. Corella D, Guillen M. Dietary habits and epidemiology of gastric cancer. Hepatogastroenterol 2001; 48(42): 1537-43.
25. Goodwin CS, Mendall MM, Northfield TC. *Helicobacter pylori* infection. Lancet 1997; 349: 265-9.
26. Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984; 1:1310-14.
27. Marshall BJ, McGeachie DB, Rogers PA, Glancy RJ. Pyloric campylobacter infection and gastroduodenal disease. MJA 1985; 142: 439-44.
28. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. Helicobacter pylori. Clin Microbiol Reviews 1997; 10(4):720-41.
29. Windsor HM, O'Rourke J. Bacteriology and taxonomy of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin North Am. 2000; 29(3):633-48
30. Ladeira MSP; Salvadori DMF; Rodrigues MAM. Biopathology of *Helicobacter pylori*. J Bras Patol Med Lab 2003; 39(4):335-42.

31. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum KA, Klenk HP, Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fitzgerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JM, Fujii C, Bowman C, Watthey L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature 1997; 388(6642):539-47
32. Coelho LGV, León-Barúa R, Quigley, EMM, F.R.C.P., F.A.C.P., F.A.C.G.º, Representatives of the Latin-American National Gastroenterological Societies affiliated with the Inter-American Association of Gastroenterology (AIGE). Latin-American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol 2000; 95(10): 2688-91.
33. Santos IS, Boccio J, Santos AS, Valle NCJ, Halal CS, Bachilli MC, Lopes RD. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and associated factors among adults in Southern Brazil: a population-based cross-sectional study. BMC Public Health 2005;5:118
34. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*: 20 years on. Clinical Medicine 2002; 2(2): 147-52.
35. Melchers K, Herrmann L, Mauch F, Bayle D, Heuermann D, Weitzenegger T, Schuhmacher A, Sachs G, Haas R, Bode G, Bensch K, Schafer KP. Properties and function of the P type ion pumps cloned from *Helicobacter pylori*. Acta Physiol Scand 1998 (suppl) 643:123-35.
36. Gatti LL, Fagundes e Souza EK, Leite KR, Bastos ELS, Vicentini LR, Dilva LC, Smith MAC, Spencer LMP. cagA, vacA alleles and babA2 genotypes of *Helicobacter*

pylori associated with gastric disease in Brazilian adult patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51:231-5.

37. Figueiredo C, Van Doorn LJ, Nogueira C, Soares JM, Pinho C, Figueira P, Quint WG, Carneiro F. *Helicobacter pylori* genotypes are associated with clinical outcome in Portuguese patients and show a high prevalence of infections with multiple strains. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36(2): 128-35.

38. Nomura AM, Perez-Perez GI, Lee J, Stemmermann G, Blaser MJ. Relation between *Helicobacter pylori cagA* status and risk of peptic ulcer disease. *Am J Epidemiol* 2002; 155 (11): 1054-59.

39. Rota CA, Pereira-Lima JC, Blaya C, Nardi NB. Consensus and Variable Region PCR Analysis of *Helicobacter pylori* 3' Region of *cagA* Gene in Isolates from Individuals with or without Peptic Ulcer. *J Clin Microbiol* 2001, 39(2): 606-12.

40. Nogueira C, Figueiredo C, Carneiro F, Gomes AT, Barreira R, Figueira P, Salgado C, Belo L, Peixoto A, Bravo JC, Bravo LE, Realpe JL, Plaisier AP, Quint WG, Ruiz B, Correa P, van Doorn LJ. *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. *Am J Pathol* 2001; 158(2):647-53.

41. Sozzi M, Valentini M, Figura N, De Paoli P, Tedeschi RM, Gloghini A, Serraino D, Poletti M, Carbone A. Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in *Helicobacter pylori* infection: the role of CagA status. *Am J Gastroenterol* 1998; 93(3): 375-9.

42. Demirturk L, Ozel AM, Yazgan Y, Solmazgul E, Yildirim S, Gultepe M, Gurbuz AK. CagA status in dyspeptic patients with and without peptic ulcer disease in Turkey: association with histopathologic findings. *Helicobacter* 2001; 6 (2): 163-8.

43. Maarros HI, Vorobjova T, Sipponen P, Tammur R, Uiibo R, Wadstrom T, Kevallik R, Villako K. An 18-year follow-up study of chronic gastritis and *Helicobacter pylori*

association of CagA positivity with development of atrophy and activity of gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34 (9): 864-9.

44. Kuipers EJ, Perz-Perez GI, Meuwissen SG, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the CagA status. *J Natl Cancer Inst* 1995;87 (23): 1777-80.

45. Saruc M, Demir MA, Kucukmetin N, Kandiloglu AR, Akarca US, Yuceyar H. Histological and clinic predictive value of determination of tissue CagA status by PCR in *Helicobacter pylori* infected patients; results of the large population based study in western Turkey. *Hepatogastroenterology* 2002; 49 (45): 878-81.

46. Ashour AAR, Magalhães PP, Mendes EN, Collares GB, de Gusmao VR, Queiroz DM, Nogueira AM, Rocha GA, de Oliveira CA. Distribution of *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2002; 33:173-8.

47. Figueiredo C, Machado JC, Pharoah P, Seruca R, Sousa S, Carvalho R, Capelinha AF, Quint W, Caldas C, van Doorn LJ, Carneiro F, Sobrinho-Simoes M. *Helicobacter pylori* and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94 (22): 1680-7.

48. Bravo LE, van Doorn LJ, Realpe JL, Correa P. Virulence-associated genotypes of *Helicobacter pylori*: do explain the African enigma? *Am J Gastroenterol* 2002; 97 (11): 2839-42.

49. Nomura AM, Lee J, Stemmermann GN, Nomura RY, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* CagA seropositivity and gastric carcinoma risk in a Japanese American population. *J Infect Dis* 2002; 186 (8): 1138-44.

50. Krogfelt KA, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter* 2005; 10(s1): 5-13.

51. Peterson WL, Graham DY. *Helicobacter pylori* em: Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management. 7ª edição. Philadelphia: Editora Saunders, 2002. cap 39 – pág 732-46.
52. Kupcinskis L, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* and Non-malignant Diseases. *Helicobacter* 2005;10(s1): 26-33.
53. Fischbach W, Chan AO, Won BC. *Helicobacter pylori* and Gastric Malignancy *Helicobacter* 2005; 10(s1):34-9.
54. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G; European Helicobacter Pylori Study Group (EHPSG). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002; 16(2):167-80.
55. Coelho LGV, Zaterka S, Representantes indicados pela Federação Brasileira de Gastroenterologia e Núcleo Brasileiro para o Estudo do *Helicobacter*. II Consenso Brasileiro sobre *Helicobacter pylori*. *Arq. Gastroenterol.* 2005; 42 (2): 128-32
56. Kuipers EJ, Uytterlinde AM, Pena AS, Roosendaal R, Pals G, Nelis GF, Festen HP, Meuwissen SG. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. *Lancet* 1995; 345(8964):1525-8
57. Ohkusa T, Fujiki K, Takashimizu I, et al. Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients in whom *Helicobacter pylori* was eradicated. *Annals Intern Med* 2001; 134: 380-6.
58. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345(11): 784-9

59. Forbes GM, Threlfall TJ. Treatment of *Helicobacter pylori* infection to reduce gastric cancer incidence: uncertain benefits of a community based program in Australia. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13(11): 1091-5.
60. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* Seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 1998; 114:1169-79.
61. Fonthan ETH, Ruiz B, Perez A, Hunter F, Correa P. Determinants of *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:1094-1101.
62. Rugge M, Cassaro M, Leandro G, Baffa R, Avellini C, Bufo P, Stracca V, Battaglia G, Fabiano A, Guerini A, Di Mario F. *Helicobacter pylori* in promotion of gastric carcinogenesis. *Dig Dis Sci* 1996; 41:950-5.
63. Hazell SL, Hennessy WB, Borody TJ, Carrick J, Ralston M, Brady L, Lee A. *Campylobacter pylori* gastritis II: distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. *Am J Gastroenterol* 1987; 82:297-301.
64. Robey-Cafferty SS, Ro JY, Cleary KR. The prevalence of *Campylobacter pylori* in gastric biopsies from cancer patients. *Mod Pathol* 1989; 2:473-6.
65. Feldman RA, Evans SJW. Accuracy of diagnostic methods used for epidemiological studies *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9 (suppl 2): 21-32.
66. Rocha AM, Rocha GA, Leite JL, Lisboa RL, Silva PV, Queiroz DM. Immunoblotting for the serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Brazilian patients with and without gastric carcinoma. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004; 99(2):189-93.
67. Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Oliveira AM, Oliveira CA, et al. Serological and direct diagnosis of *Helicobacter pylori* in gastric carcinoma: a case-control study. *J Med Microbiol* 1999; 48:501-6.

68. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. Review. Science 1999; 96: 14559-64.
69. Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of *Helicobacter pylori* CagA protein. Nature 2004; 4: 688-94
70. Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, Irvine EJ, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *cagA* seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology 2003;125:1636-44.
71. Rocha AM, Rocha GA, Santos A, de Oliveira CA, Queiroz DM. Accuracy of a commercial enzyme -linked immunosorbent assay for CagA in patients from Brazil with and without gastric carcinoma. J Clin Microbiol 2003; 41(1): 447-8.
72. Ekstrom AM, Signorello LB, Hansson LE, Bergstrom R, Lindgren A, Nyren O. Evaluating gastric cancer misclassification: a potential explanation for the rise in cardia cancer incidence. J Natl Cancer Inst 1999; 91(9):786-90.
73. Lauren P. The two main histological types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal type carcinoma: an attempt at a histoclinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand 1965; 64:31-49.
74. Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY. Antibody against *Helicobacter pylori* CagA and VacA and the risk for gastric cancer. J Clin Pathol 1999; 52(3): 215-8.
75. Limburg PJ, Qiao YL, Mark SD, Wang GQ, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Wu YP, Zou XN, Dong ZW, Taylor PR, Dawsey SM. *Helicobacter pylori* seropositivity and subsite-specific gastric cancer risks in Linxian, China. J Natl Cancer Inst 2001; 93(3): 226-33.

76. Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Oliveira AM, Oliveira CA, et al. *cagA*-positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. *Int J Cancer* 1998; 78: 135-9.
77. Kikuchi S, Crabtree JE, Forman D, Kurosawa M. Association between infections with CagA-positive or –negative strains of *Helicobacter pylori* and risk for gastric cancer in young adults. Research Group on Prevention of Gastric Carcinoma among Young Adults. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3455-9.
78. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelmann H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 297-301.
79. Brenner H, Arndt V, Sturmer T, Stegmaier C, Ziegler H, Dhom G. Individual and joint contribution of family history and *Helicobacter pylori* infection to the risk of gastric carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 274-9.
80. Shimoyama T, Fukuda S, Tanaka M, Mikami T, Munakata A, Crabtree JE. CagA seropositivity associated with development of gastric cancer in a Japanese population. *Clin Pathol* 1998; 51: 225-8.
81. Maeda S, Yoshida H, Ogura K, Yamaji Y, Ikenoue T, Mitsushima T, Tagawa H, Kawagushi R, Mori K, Mafune K, Kawabe T, Shiratori Y, Omata M. Assessment of gastric carcinoma risk associated with *Helicobacter pylori* may vary depending on the antigen used: CagA specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) versus commercial available *H. pylori* ELISAs. *Cancer* 2000; 88: 1530-5.
82. Konturek SJ, Starzynska T, Konturek PC, Karczewska E, Marlicz K, Lawniczak M, Jaroszewicz-Heigelman H, Bielanski W, Hartwich A, Ziemniak A, Hahn EG. *Helicobacter*

pylori and cagA status, serum gastrin, interleukin-8 and gastric acid secretion in gastric cancer. *Scand J gastroenterol* 2002; 37: 891-8.

83. Brenner H, Arndt V, Stegmaier C, Ziegler H, Rothenbacher D. Is *Helicobacter pylori* infection a necessary condition for noncardia gastric cancer? *Am J Epidemiol* 2004; 159 (3):252-8.

84. Tatemichi M, Hamada GS, Nishimoto IN, Kowalski LP, Iriya K, Rodrigues JJ, Tsugane S. Ethnic difference in serology of *Helicobacter pylori* CagA between Japanese and non-Japanese Brazilians for non-cardia gastric cancer. *Cancer Sci* 2003; 94: 64-9.

85. Sorberg M, Engstrand L, Strom M, Jonsson KA, Jorbeck H, Granstrom M. The diagnostic value of enzyme immunoassay and immunoblot in monitoring eradication of *Helicobacter pylori*. *Scand J Infect Dis* 1997; 29: 147-51.

86. van Doorn LJ, Henskens Y, Nouhan N, Verschuuren A, Vreede R, Herbink P, Ponjee G, van Krimpen K, Blankenburg R, Scherpenisse J, Quint W. The efficacy of laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* infections in gastric biopsy specimens is related to bacterial density and *vacA*, *cagA*, and *iceA* genotypes. *J Clin Microbiol* 2000;38(1):13-7.

87. Monteiro L, de Mascarel A, Sarrasqueta AM, Bergey B, Barberis C, Talby P, Roux D, Shouler L, Goldfain D, Lamouliatte H, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: non-invasive methods compared to invasive methods and evaluation of two new tests. *Am J Gastroenterol* 2001; 96(2): 353-8.

88. Kisa O, Albay A, Mas MR, Celasun B, Doganci L. The evaluation of diagnostic methods for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43(4): 251-5.

89. Brooks HJ, Ahmed D, McConnell MA, Barbezat GO. Diagnosis of Helicobacter pylori infection in polymerase chain reaction: is it worth it? *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;50(1): 1-5.

Anexo

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* aumenta o risco de desenvolvimento de diversas doenças, dentre elas, câncer do estômago.

Estás sendo convidado a participar de um estudo que envolve a avaliação da relação entre infecção por *Helicobacter pylori* linhagem *cagA*-positiva e risco de câncer gástrico.

A detecção desta linhagem bacteriana pode ser feita através de exame de sangue e de exame de biópsias da mucosa do estômago.

Se concordares em participar deste estudo, pesquisaremos a presença de infecção pelo *Helicobacter pylori* através de biópsias que serão realizadas durante o exame de Endoscopia Digestiva Alta, o que aumentará a duração do exame em torno de 5 minutos e acarretará o risco de pequenos sangramentos, que raramente necessitam medida terapêutica específica.

O exame de Endoscopia Digestiva Alta, solicitado por seu médico, será realizado conforme a solicitação, independentemente do seu consentimento para a realização dos demais exames citados acima.

Os resultados dos exames serão confidenciais, sendo de conhecimento apenas dos médicos deste Serviço, assim como de seu médico.

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento pela sua participação no estudo.

É importante que saibas que a participação neste estudo é completamente voluntária e que podes recusar-te a participar ou interromper a participação a qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios aos quais tens direito.

Declaro estar de acordo com a realização desses procedimentos, estando ciente das limitações, conforme explicado pelos médicos.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__

Nome do paciente: _____

Assinatura do paciente: _____

Nome do Médico: Gilmara Coelho Meine
Telefone: 35274737

Coordenador do GEP / GHC: Julio Baldisserotto
Telefone: 33611739