



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA

LUCIANO DE ALBUQUERQUE MELLO

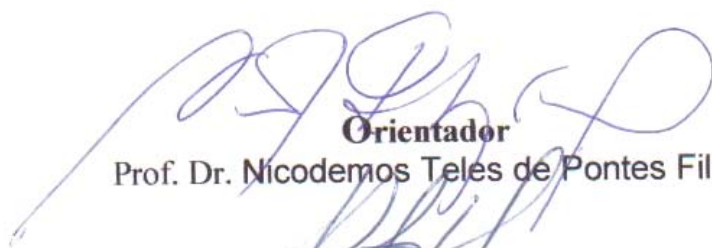
**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DE LESÕES GÁSTRICAS
RELACIONADAS À INFECÇÃO PELO *Helicobacter pylori***

Recife, 2007

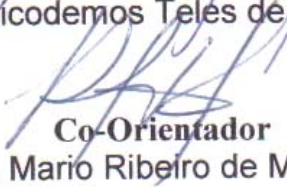
LUCIANO DE ALBUQUERQUE MELLO

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DE LESÕES GÁSTRICAS
RELACIONADAS À INFECÇÃO PELO *Helicobacter pylori***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia, do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Patologia. Área de Concentração: Patologia Geral.



Orientador
Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho



Co-Orientador
Prof. Dr. Mario Ribeiro de Melo-Júnior

Recife, 2007

Mello, Luciano de Albuquerque

Análise histomorfométrica de lesões gástricas relacionadas à infecção pela *Helicobacter pylori* / Luciano de Albuquerque Mello. – Recife: O Autor, 2007.

84 folhas : il., tab., fig.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. *Helicobacter pylori*. 2. Gastrite – Análise de Imagens.
I. Título.

616.33-002

CDU (2.ed.)

UFPE

616.333

CDD (22.ed.)

CCS2007-138

**Tese: Análise Histomorfométrica de Lesões Gástricas Relacionadas
À Infecção Pelo *Helicobacter Pylori***

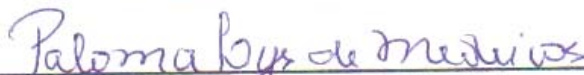
Mestrando: Luciano de Albuquerque Mello

Data da Defesa: 07 de Agosto de 2007

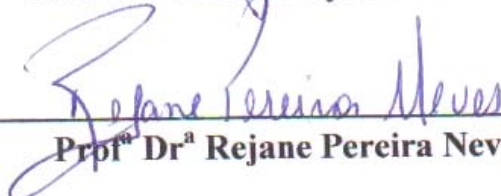
Banca Examinadora



Prof Dr Etenildo Dantas Cabral



Profª Drª Paloma Lys de Medeiros



Profª Drª Rejane Pereira Neves

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Odilon de Albuquerque Mello Filho e Veralúcia Ferreira Mello,
pelo amor, incentivo, paciência, preocupação e sabedoria. Que estão sempre
torcendo pelo meu desempenho e sucesso.
Meu eterno agradecimento.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho, por toda confiança e dedicação, proporcionando um ambiente de trabalho favorável para realização desta dissertação, e sendo assim, um facilitador de minha jornada.

Ao cômico, Prof. Dr. e amigo Mario Ribeiro de Melo Júnior, pela excelente orientação, dedicação, atenção, compreensão e toda paciência do mundo.

A Marina Lima (Fadinha!), minha namorada e incentivadora, por me ajudar a direcionar meus objetivos e me apoiar sempre, Te amo.

Aos meus irmãos Leonardo e Caroline, pessoas que representam, para mim, a união nos momentos importantes.

Ao meu Tio José Roberto Melo meu “padrinho da sabedoria”, por sempre me incentivar em minha carreira acadêmica.

Aos meus amigos Andrezza Rapozzo, Carmelita, Cynara Dayse, Humberto Bertão, Jorge Luiz, Marcos Machado, Reginaldo Gonçalves, Renata Kelly, Rodrigo Bacelar, Vasco Malta e Manoel Carvalho pelos momentos agradáveis, produtivos e descontraídos.

Aos funcionários, Moiseis, Vera, Paulo, Leo, Mendes, por sempre estarem prontos a ajudar, permitindo, assim, que este trabalho fosse concluído com sucesso.

SUMÁRIO

	Pág
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	07
LISTA DE ABREVIATURAS	08
RESUMO	09
1. REVISÃO DA LITERATURA	10
1.1 Doenças inflamatórias da mucosa gástrica	10
1.1.1 Gastrite Aguda	10
1.1.2 Gastrite crônica	11
1.1.3 Úlcera péptica (UP)	12
1.1.4 Câncer gástrico	14
1.2 A bactéria <i>Helicobacter pylori</i>	15
1.2.1 Patogênese das lesões induzidas pelo <i>H. pylori</i>	17
1.2.2 Fatores de virulência do <i>H. pylori</i>	18
1.2.3 Transmissão	21
1.2.4 Transmissão por via oral-oral	22
1.2.5 Transmissão por via fecal-oral	24
1.2.6 Transmissão iatrogênica ou gastro-gástrica	25
1.3 Correlação entre a colonização pela <i>H. pylori</i> e doenças do estômago	25
1.4 Aspectos Epidemiológico	27
1.5 No Brasil	29
1.6 Diagnóstico da Infecção pelo <i>H. Pylori</i>	30
1.7 Análise digital de Imagens em Patologia	33
2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	37
3. OBJETIVOS	38
Artigo Científico	39
Abstract	40
1. Introdução	41
2. Material & Métodos	42
3. Resultados e Discussão	46
4. Conclusões	54
5. Referências	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Revisão da literatura)	61
ANEXOS	
Anexo 1. Aprovação do comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos.	82
Anexo 2. Trabalhos desenvolvidos durante o mestrado.	83

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Revisão da Literatura	Pág.
Figura 1. Micrografia do <i>Helicobacter pylori</i>	16
Figura 2. Colônia de <i>H. pylori</i> em mucosa estomacal.	17
Figura 3. Esquematização anatômica do estômago e corte histológico da região do antro corado pela técnica de Giemsa (10x).	32
Tabela 1. Prevalência de infecção da <i>H. pylori</i> na população brasileira.	30
Ártico Científico	
Figura 1. Estação digital para análise de imagem.	43
Figura 2: Imagens coloridas convertidas em imagens com diferentes tonalidades de cinza (digitalização da imagem).	44
Figura 3. Prevalência da <i>H. pylori</i> nas amostras de fragmentos de mucosa gástrica.	46
Figura 4. Micrografia histológica da região antral do estômago.	48
Figura 5. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo diagnósticos histopatológicos e faixa etária com positividade para <i>H. pylori</i> .	52
Figura 6. Número médio de bacilos <i>H. pylori</i> em relação ao diagnóstico qualitativo de biópsias gástricas.	53
Tabela 1. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo laudos histopatológico e positividade para <i>H. pylori</i> .	49
Tabela 2. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo o sexo e positividade para <i>H. pylori</i> .	50
Tabela 3. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo a faixa etária e positividade para <i>H. ylori</i> .	51
Tabela 4. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo laudos histopatológico e análise qualitativa positividade para <i>H. pylori</i>	51

LISTA DE ABREVIATURAS

µm	Micrometro
2D	Bidimensional
BabA	Blood-group antigen-binding A
cagA	cytotoxin-associated gene A.
Cox-2	<i>Cyclooxygenase-2</i> (enzima)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FC	Fator Correção
GC	Câncer gástrico
HE	Hematoxilina-eosina
Hp	<i>Helicobacter pylori</i>
IARC	Internacional Agency for Research on Cancer
IL	Interleucina
IL-8	Interleucina-8
INCA	Instituto Nacional de Câncer
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
mL	Mililitro
PCR	Polymerase chain reaction
Pixels	Picture elements
SabA	Sialic acid-binding adhesin A
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UP	Úlcera Péptica
vacA	Vacuolating cytotoxin A

RESUMO

O bacilo *Helicobacter pylori* é atualmente considerado como o agente etiológico mais importante das gastrites em seres humanos e como um fator de risco para o surgimento das doenças ulcerativas do carcinoma gástrico. Estima-se que 50% da população mundial está infectada por esta bactéria. Atualmente, apenas estudos subjetivos e qualitativos têm sido realizados na análise da colonização do *H. pylori*. O objetivo deste estudo foi avaliar quantitativamente, através de análise morfométrica, a colonização pelo *H. pylori* em biópsia de pacientes com diferentes lesões gástricas (gastrites e úlcera). Para o estudo utilizou-se biópsias gástricas de 239 pacientes (95 homens e 144 mulheres) com idade média de 45 anos, provenientes de diferentes municípios do estado de Pernambuco. Os cortes histológicos (4µm) foram corados pelo Giemsa e analisado através de microscopia óptica. O estudo morfométrico foi realizado por meio de um sistema digital de análise de imagens onde as áreas de interesse obtidas foram processadas utilizando-se o software OPTIMAS®. Os resultados indicam uma incidência de 39% de lesões inflamatórias gástricas associadas à infecção por Hp com maior ocorrência (60,3%) no gênero feminino e com faixa etária entre 31-45 anos. Quanto às lesões gástricas mais freqüentes observou-se que a gastrite crônica ativa foi a mais evidente em cerca de 90,2% dos casos estudados. Houve uma correlação positiva entre a análise qualitativa (semi-quantitativa) e a análise morfométrica (número médio de bacilos Hp, por área), principalmente quando se comparou os parâmetros “numerosos” bacilos com os “ moderados e raros”. A partir destes dados pode-se concluir que os estudos referentes aos aspectos da infecção da mucosa gástrica pelo Hp, e mais especificamente os níveis de infecção quanto ao número de bacilos e extensão das áreas afetadas são de sua importância para que se possa conhecer melhor a evolução das lesões gástricas resultantes deste quadro infeccioso e em que situações e grupos humanos podem representar fatores de risco para o desenvolvimento de lesões mais graves como o câncer.

Palavra-chave: Gastrite, *H. pylori*, Análise de imagens, Morfometria.

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Doenças inflamatórias da mucosa gástrica

A infecção pelo *H. pylori* na mucosa gástrica induz um infiltrado inflamatório de neutrófilos, monócitos, linfócitos e plasmócitos e a expressão de citocinas pró-inflamatórias como interleucinas (1, 2, 6 e 8), fator de necrose tumoral (alfa) e interferon- γ . Embora as respostas inflamatória e imune possam agravar as lesões degenerativas do epitélio, desencadeadas pela bactéria, são incapazes de eliminá-la. Algumas cepas (cagA) parecem estar envolvidas na magnitude e característica da produção de citocinas (IL-8), sendo portanto de importância no grau de inflamação gástrica crônica e no espectro da doença. Mas, o mais provável, é que a intensidade e a forma das respostas inflamatória e imune, associadas à virulência da cepa, estabelecem doenças gastroduodenais diferentes (Hunt *et al.*, 1995; Misiewicz 1995).

1.1.1 Gastrite Aguda

A gastrite é definida como inflamação da mucosa gástrica com infiltrados predominantemente de células linfoplasmocitárias (Faria *et al.*, 1999).

A gastrite aguda é um processo inflamatório mucoso, habitualmente de natureza transitória. A inflamação pode ser acompanhada por hemorragia para dentro da mucosa e, em circunstâncias mais graves, por desprendimento da mucosa superficial. Essa forma erosiva grave da doença é uma causa importante de sangramento gastrointestinal agudo (Aoki *et al.*, 2005).

Esta lesão está geralmente associada à ingestão excessiva de álcool, fumo, traumatismo mecânico (intubação nasogástrica), substâncias corrosivas, aspirina, corticóide e alguns outros medicamentos (Korwin, 2006).

Macroscopicamente, a mucosa apresenta-se difusa, congesta ou com áreas edemaciadas, recobertas por muco e fina película fibrosa. Pode haver hemorragias petequiais ou múltiplas erosões causando hematêmese. Microscopicamente, observam-se acentuado edema, hiperemia e áreas hemorrágicas na porção mais

superficial da mucosa, tendo leve infiltrado linfoplasmocitário com neutrófilos (Faria *et al.*, 1999).

Em sua forma mais branda, a lâmina própria exibe apenas edema moderado com ligeira hiperemia. O epitélio superficial apresenta-se intacto e existem neutrófilos espalhados entre as células epiteliais mucosas. A presença de neutrófilos acima da membrana basal (dentro do espaço epitelial) é anormal e significa inflamação ativa (Faria *et al.*, 1999).

Com um dano mucoso mais grave, observam-se erosão e hemorragia. A “erosão” denota perda do epitélio superficial, gerando um defeito na mucosa que não atravessa a camada muscular. É acompanhada por um infiltrado inflamatório agudo abundante e por extrusão de um exsudato purulento contendo fibrina para dentro da luz. A hemorragia pode ocorrer independentemente, gerando manchas escuras pontilhadas na mucosa hiperemiada, ou em associação com a erosão. A concomitância de erosão e hemorragia é denominada gastrite hemorrágica erosiva aguda. Grandes áreas da mucosa gástrica podem ser desnudadas, mas o acometimento é superficial e só raramente afeta toda a espessura da mucosa (Faria *et al.*, 1999).

Dependendo da gravidade das alterações anatômicas, a gastrite aguda pode ser totalmente assintomática; podendo causar dor epigástrica variável, náuseas e vômitos; ou pode manifestar-se com hemorragia líquida, hematêmese maciça, melena e perda sanguínea potencialmente fatal (Ogura *et al.*, 2000).

Em torno de 25% dos indivíduos que tomam diariamente aspirina, como ocorre, por exemplo nos pacientes com artrite reumatóide, desenvolvem gastrite aguda, muitas vezes com sangramento (Ogura *et al.*, 2000).

1.1.2 Gastrite crônica

A Gastrite crônica também chamada de inespecífica é definida com a presença de alterações inflamatórias mucosas, que acabam resultando em atrofia da mucosa e metaplasia epitelial de evolução em semanas e até anos (Ogura *et al.*, 2000).

As alterações epiteliais podem tornar-se displásicas e constituem um terreno apropriado para o surgimento de carcinoma. A gastrite crônica é notável pelos subgrupos causais distintos, conforme a intensidade. Neste caso o infiltrado pode limitar-se à parte superior da mucosa (gastrite superficial) ou estender-se a toda a sua espessura (gastrite transmucosa), podendo esta provocar atrofia da mucosa (gastrite atrófica) (León-Barúa, *et al.*, 2006).

A evolução e os distúrbios funcionais relacionados a gastrite dependem da intensidade das lesões. A atrofia aparece lentamente e só muito mais tarde torna-se bem definida (Korwin, 2006).

Em geral, a gastrite crônica causa poucos sintomas. Podem ocorrer náusea, vômitos e desconforto abdominal alto (Ogura *et al.*, 2000). A mucosa gástrica atrófica apresenta metaplasia intestinal, mais freqüente no antro. E conforme o tipo de glândulas, podem ser metaplásica seja do tipo do intestino delgado ou do grosso (León-Barúa *et al.*, 2006).

Os indivíduos com gastrite antral em fase avançada ou com pangastrite associadas à etiologia ambiental costumam ter hipocloridria, em virtude das células parietais e da atrofia da mucosa gástrica. Como as células parietais nunca são destruídas completamente, esses pacientes não desenvolvem por completo acloridria nem anemia perniciosa (Korwin, 2006).

A maioria dos pacientes com úlcera péptica seja ela duodenal ou gástrica, sofre de gastrite antral ou pangastrite que persiste após a cicatrização da úlcera, sugerindo que a gastrite é primária. O risco em longo prazo de carcinoma gástrico para as pessoas com atrofia gástrica varia entre 2 e 4%, sendo consideravelmente maior que aquele observado na população normal (León-Barúa, *et al.*, 2006).

1.1.3 Úlcera péptica (UP)

A prevalência da UP é difícil de ser estimada, tendo em vista a subjetividade dos sintomas e a freqüente confusão com outros quadros dispépticos. Além das evidências atuais de declínio de incidência da doença, também a proporção entre homens e mulheres vem se alterando nas últimas décadas. Os dados disponíveis baseiam-se em estatísticas obtidas a partir dos quadros de úlcera perfurada, os

quais, embora sujeitos a críticas por não representarem todo espectro da doença ulcerosa, constituem o material mais uniforme e confiável para tais avaliações (Coelho *et al.*, 2004).

A UP é uma lesão crônica que aparece em qualquer porção do trato gastrointestinal exposto à ação agressiva dos sucos ácido-pépticos. São lesões remitentes e recidivantes diagnosticadas mais freqüentemente em adultos de meia idade ou mais velhos (Faria *et al.*, 1999).

Macroscopicamente, a úlcera péptica crônica é geralmente única, profunda, redonda ou oval, com cerca de 1 a 2 cm de diâmetro, de borda nítida e não saliente. No fundo da úlcera, desenvolve-se fibrose que torna a úlcera mais superficial (tentativa de cura) (Coelho *et al.*, 2004).

Microscopicamente, a úlcera atinge as camadas mucosa, submucosa e muscular própria. É característica a presença de quatro zonas histológicas na úlcera péptica crônica: na superfície, exsudado fibrinoso com neutrófilos e hemácias, material necrótico abaixo, tecido de granulação e tecido fibroso neoformado mais profundamente (Coelho *et al.*, 2004).

A úlcera aparece com freqüência sem influências desencadeantes óbvias e cicatrizam com ou sem terapia depois de semanas ou meses (Roma *et al.*, 2001).

A úlcera péptica e suas manifestações são uma causa freqüente de consultas médicas no mundo inteiro. Apesar desta inflamação crônica do estômago e/ou do duodeno não ser uma causa importante de mortalidade, ela ocasiona altos custos econômicos para o seu correto monitoramento. A úlcera duodenal é comum em todo o mundo, com a característica de ser uma enfermidade crônica recorrente, com complicações que incluem hemorragia, perfuração e/ou obstrução, ocasionando também profundo estresse nos pacientes (Kawakami *et al.*, 2004).

A grande maioria das úlceras pépticas causa dor epigástrica lacinante e/ou queimação constante. A dor tende a piorar a noite e ocorre de 1 a 3 horas após as refeições. Podendo ser aliviada pelo uso de alguns álcalis, ou consumo alguns tipos de alimentos (Kawakami *et al.*, 2004).

Há muito tem-se tentado implicar fatores causais específicos; em certas ocasiões se afirmava que o estresse e a dieta eram as únicas causas das úlceras pépticas, e os tratamentos incluíam hospitalização, repouso e dietas especiais

(Roma *et al.*, 2001). A recorrência da sintomatologia era uma regra. Outro fator que foi implicado posteriormente como sendo uma das causas principais da doença seria a secreção gástrica, o que tornou os tratamentos com antiácidos bastante frequentes (Kawakami *et al.*, 2004).

Evidências recentes, também apontam para mais uma complicação do quadro de UP, que seria o desenvolvimento de neoplasia malignas (Rodrigues *et al.*, 2001).

1.1.4 Câncer gástrico

O câncer gástrico pode ser considerado resultado de um complexo processo, que evolui da mucosa normal, após gastrite crônica até gastrite atrófica, úlcera péptica, metaplasia intestinal, displasia e neoplasia (Correa, 1992).

O câncer gástrico (GC) é um desafio clínico devido a sua frequência, mortalidade e opções limitadas do tratamento (Hanahan; Weinberg, 2000). Indivíduos com histórico familiar de GC possuem uma maior probabilidade de desenvolver esta doença do que indivíduos que não possui tal histórico familiar (La Vecchia *et al.*, 1992).

O câncer gástrico vem apresentando diminuição da incidência e da mortalidade em vários países, inclusive no Brasil, porém ainda é uma das doenças tumorais mais frequentes no mundo (Resende *et al.*, 2006).

Na América do Sul, as taxas de mortalidade registradas na década de 60 eram muito altas (cerca de 140/100.000 em homens e de 80/100.000 em mulheres), porém o declínio da mortalidade vem diminuindo ao longo dos anos em todo o mundo, com as taxas se reduzindo a mais que a metade nos últimos anos (Resende *et al.*, 2006).

No Brasil, o CG é a neoplasia mais frequente do sistema digestivo, ocupando o primeiro lugar na escala da ocorrência entre homens e o quarto lugar entre as mulheres (Arruda *et al.*, 1997; MS- Brasil, 2007).

Vários estudos conduzidos em parentes de primeiro grau de pacientes com câncer gástrico têm destacado associação positiva entre história familiar e risco para câncer gástrico (Brenner *et al.*, 2000, El-Omar *et al.*, 2000, Sepúlveda, 2001).

O CG tem uma distribuição não uniforme pelo mundo, variando amplamente com o país e a população, sendo a principal causa de morte por câncer no mundo. Possui alta incidência em países como o Japão (Yamaguchi; Kakizoe, 2001), Peru (Kodaira *et al.*, 2002), Leste Europeu, algumas regiões da Rússia e América Central (Bittencourt *et al.*, 2006), também relacionados com grupos socioeconômicos mais baixos. A maior incidência está no Japão, variando de 85-91 homens para cada 100.000 habitantes (Yamaguchi; Kakizoe, 2001).

Em todo o mundo, o câncer gástrico é a segunda causa de morte, superada apenas pela alta dos casos letais de câncer de pulmão. A sua incidência vem aumentando com a idade, sendo pouco freqüente abaixo dos 40 anos, o contrário ocorrendo acima dos 60 anos (Logan; Walker, 2001).

A contribuição mais importante foi a descrição, por Werren & Marshal, (1984 apud Bittencourt *et al.*, 2006), de um microorganismo espiralado que teria estreita relação com a presença de gastrites antrais, úlceras gástricas e/ou duodenais. Propoe-se então que, erradicando-se este microorganismo, eliminavam-se as recorrências das complicações. Desde então, muitas doenças inflamatórias gástricas e suas complicações tem sido consideradas também como doença de etiologia infecciosa (Bittencourt *et al.*, 2006).

1.2 A bactéria *Helicobacter pylori*

O gênero *Helicobacter* foi definido através de estudos iniciais de composição do RNA ribossômico bacteriano (Romaniuk *et al.*, 1987), de seqüenciamento e hibridação do DNA (Goodwin, 1989). Este gênero, juntamente com outros (*Campylobacter*, *Arcobacter* e *Wolinella*), constitui a superfamília VI de bactérias gram-negativas definidas por Vandamme e colaboradores (1991).

A morfologia do *H. pylori*, observada à microscopia ótica e eletrônica (**Figura 1**) é homogênea, apresentando-se com estrutura encurvada ou espiralada, de superfície lisa e extremidades arredondadas, móvel, não-esporulada e microaerófila. Mede aproximadamente 0,5 a 0,1 μm de largura e 3 μm de comprimento, possuindo de quatro a seis flagelos unipolares embainhados e bulbos terminais nas extremidades lisas (Adrian *et al.*, 2002).

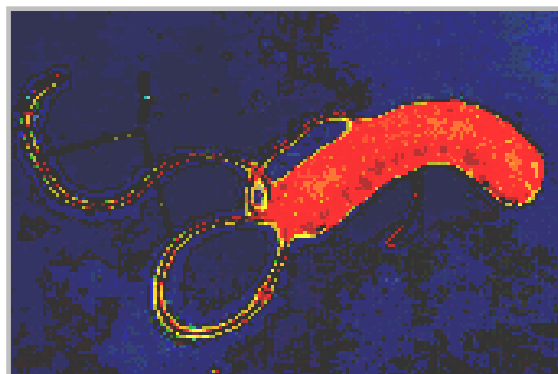


Figura 1. Micrografia do *Helicobacter pylori*
Fonte: LumeRx, 2004

O gênero *Helicobacter* é composto atualmente de, no mínimo, 27 espécies que compartilham propriedades comuns, especialmente aquelas relacionadas com a vida no estômago, onde podem localizar-se no fundo e no corpo, mas é principalmente no antro onde as bactérias são encontradas em maior densidade (Blaser; Berg, 2001).

O *H. pylori* pode distribuir-se de maneira focal, segmentar ou difusa ao longo da mucosa gástrica, localizando-se no interior ou sob a camada de muco que recobre o epitélio da superfície ou das fovéolas, em íntimo contato com a membrana luminal das células epiteliais que revestem a mucosa gástrica (Walsh, 2000). O *H. pylori* possui capacidade excepcional de aderência. É adaptado para colonizar somente a mucosa gástrica, sendo observado raramente em áreas de metaplasia intestinal. A afinidade do *H. pylori* pelas células mucíparas gástricas deve-se à composição neutra do muco gástrico, diferente dos mucopolissacarídeos ácidos produzidos pelas células caliciformes da metaplasia intestinal (Ladeira *et al.*, 2003).

A bactéria, na fase precoce de colonização, necessita atravessar a camada de muco que protege o epitélio gástrico. Tal camada é formada por um gel viscoelástico que confere proteção química e mecânica ao revestimento epitelial, inclusive contra bactérias (Jenks; Kusters, 2000). No entanto, lípases e proteases sintetizadas pela bactéria degradam a camada de muco, facilitando a progressão da mesma. Além disso, o *H. pylori* move-se facilmente devido à morfologia em espiral e aos flagelos e, assim, atravessa a camada de muco, estabelecendo íntimo contato com as células epiteliais de revestimento (Jenks; Kusters, 2000). Outras enzimas,

sintetizadas pela bactéria, tais como superóxido dismutase, catalase e arginase, conferem proteção contra a atividade lítica de macrófagos e neutrófilos, impedindo uma resposta eficaz do hospedeiro (Hazell *et al.*, 1991).

1.2.1 Patogênese das lesões induzidas pelo *H. pylori*

A *H. pylori* coloniza a mucosa antral e o fundo do estômago, mas não invade o epitélio (**Figura 2**). Apesar de todas as defesas do organismo humano, a bactéria consegue sobreviver neste ambiente hostil e causar danos teciduais sérios. (Jenks; Kusters, 2000).



Figura 2. Colônia de *H. pylori* em mucosa estomacal.
Fonte: Fondef

Na maioria dos indivíduos infectados pelo *H. pylori*, a inflamação é confinada à mucosa do antro gástrico. Por outro lado, em alguns indivíduos, a inflamação pode comprometer o corpo gástrico, levando à pangastrite, que pode evoluir para vários graus de atrofia, com conseqüente redução da produção de ácido clorídrico. Estes eventos são presumivelmente precursores do câncer gástrico (El-Omar *et al.*, 2000). Como somente uma minoria (< 1%) dos indivíduos infectados pelo *H. pylori* desenvolve câncer gástrico, suspeita-se de que fatores como a expressão de produtos bacterianos específicos, levando a diversos graus de resposta inflamatória, com diferentes frequências de danos no DNA, possa estar relacionados à carcinogênese gástrica (Peek *et al.*, 1997).

A resistência ao ácido clorídrico é de vital importância na patogênese do *H. pylori*, visto que, sem este atributo biológico, a bactéria não teria condições de colonizar a mucosa gástrica. A enzima urease, que é uma proteína de alto peso molecular (500 a 600K Da), atua promovendo a hidrólise da uréia, presente em

condições fisiológicas no suco gástrico, levando à produção de amônia. Esta atua como receptor de íons H^+ , gerando pH neutro no interior da bactéria, o que confere ao *H. pylori* resistência à acidez gástrica (Weeks; Sachs, 2001). Desta maneira, a bactéria fica protegida dos efeitos deletérios do pH ácido do estômago. A urease compreende 6% do total de proteínas sintetizadas pela bactéria, o que representa grande investimento energético motivado pela sua ação essencial como fator de colonização (Jenks; Kusters, 2000).

A maior parte da urease sintetizada pela bactéria situa-se em seu citoplasma. A produção de amônia depende da entrada de uréia na bactéria, que é controlada por uma proteína de membrana sensível ao pH. Esta proteína é codificada por um gene da família urease, conhecido como *ureI* (Walsh, 2000; Weeks; Sachs, 2001). Cepas do *H. pylori* com deleção de *ureI* não sobrevivem em pH ácido. Weeks & Sachs (2001) demonstraram que a entrada de uréia na bactéria é acelerada em pH 5 e reduzida em pH 7. A entrada de uréia é altamente específica, não sendo facilmente saturada, e independe de temperatura e energia. Portanto o Hp possui um mecanismo que permite a liberação do substrato uréia sobre a urease em condições em que é necessária a alcalinização local do meio ambiente. O gene *ureI* atua como portão de um canal, que também permite o refluxo de urease, aumentando o pH periplasmático e do microambiente próximo, prevenindo acúmulo tóxico de uréia dentro da bactéria (Walsh, 2000; Weeks; Sachs, 2001).

1.2.2 Fatores de virulência do *H. pylori*

Diversos marcadores de virulência do Hp são reconhecidos como fatores associados ao surgimento das doenças graves ligadas à infecção.

Os genes *cagA* são bons exemplos de marcadores da presença de patogenicidade (Censini *et al.*, 1996). Os genes (*cagA*) codificam proteínas com várias funções, entre elas a translocação da proteína *cagA*, para dentro do citoplasma das células epiteliais gástricas, onde depois de ser fosforilada pelas quinases c-src e Lyn, liga-se e ativa a fosfatase celular SHP-2, provocando rearranjo no citoesqueleto e formação de receptores que permitem maior aderência bacteriana (Selbach *et al.*, 2003). Vários outros genes estão envolvidos na estimulação da

produção de IL-8 pelas células epiteliais gástricas. A IL-8 é um potente fator quimiotático e ativador de leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, contribuindo para uma resposta inflamatória mais acentuada nos pacientes colonizados por amostras cag-PAI-positivas. Assim, pacientes infectados por amostras cagA-positivas apresentam maior densidade bacteriana na mucosa gástrica, lesões mais graves do epitélio, infiltrado de leucócitos polimorfonucleares mais intenso e níveis mais elevados de citocinas pro-inflamatórias, o que torna plausível a associação que tem sido freqüentemente relatada entre a infecção por amostras cagA-positivas e doenças ulcero-pépticas em crianças (Queiroz *et al.*, 2000; Podzorski, *et al.*, 2003) e adultos (Oliveira *et al.*, 2003; Gatti *et al.*, 2005), ou carcinoma gástrico em adultos (Argent *et al.*, 2004; Gatti *et al.*, 2005).

No Brasil, 95% e 62,3% das amostras isoladas de crianças com e sem úlcera duodenal, respectivamente, são cagA-positivas (Queiroz *et al.* 2005).

O gene vacuolating cytotoxin A (*vacA*), presente em todas as amostras de *H. pylori*, codifica a proteína VacA, uma exotoxina capaz de induzir diretamente a formação de vacúolos intracitoplasmáticos e apoptose das células epiteliais (Cover; Blanke, 2005). A toxina aumenta também a permeabilidade epitelial, o que pode facilitar tanto a passagem de substâncias tóxicas para dentro do epitélio como a difusão de nutrientes para a camada mucosa, favorecendo a sobrevivência do Hp. O *vacA* tem função imunomoduladora, ora estimulando a resposta inflamatória da mucosa gástrica por diferentes mecanismos, como, por exemplo, pelo aumento da expressão de COX-2 em células T, em neutrófilos e em macrófagos, ora inibindo a resposta de células T mediada por IL-2 (Monteccuco; Bernard, 2003). No *vacA*, há duas famílias de seqüências sinalizadoras, denominadas s1 e s2, com as variações s1a, s1be s1c, bem como dois alelos localizados na região média do gene, m1 e m2 (Atherton *et al.*, 1995). As amostras de *H. pylori vacA* tipo s1 são consideradas mais virulentas que as s2, sendo mais freqüentemente observadas nos pacientes com úlcera péptica e carcinoma gástrico do que naqueles com gastrite (Atherton *et al.*, 1995; Ashour *et al.*, 2002). Na nossa população, 85,0 e 58,3% das crianças com e sem úlcera duodenal, respectivamente, são colonizadas por amostras do tipo s1 (Gusm *et al.*, 2000).

A adesina blood-group antigen-binding A (BabA) do *H. pylori* liga-se aos antígenos Lewis-b e H-1, expressos na mucosa gástrica. A aderência da bactéria mediada por BabA parece desempenhar um papel crítico na transferência de fatores de virulência bacterianos, que lesam a mucosa gástrica, seja diretamente ou em decorrência da resposta inflamatória e/ou auto-imunidade (Ilver *et al.*, 1998). Além disso, bactérias que se mantêm firmemente aderidas ficam menos expostas à acidez gástrica e não são eliminadas pelos movimentos peristálticos (Rad *et al.*, 2002). A presença do gene *babA2*, que codifica BabA, tem sido associada à úlcera duodenal em adultos (Oliveira *et al.*, 2003; Olfat *et al.*, 2005). Em um estudo de Silva e colaboradores (2004), foi demonstrada a presença do gene em todas as amostras do *H. pylori* avaliadas, independentemente de ter sido isolada de crianças com ou sem úlcera duodenal.

A aderência da bactéria a mucosa gástrica é também mediada pela proteína chamada Adesina A ligante ao ácido silálico (sialic acid-binding adhesin A (SabA), que se liga a resíduos glicoconjugados de ácido siálico expressos na superfície das células epiteliais em vigência de processo inflamatório ou neoplásico. A expressão de ácido siálico, rara na mucosa gástrica normal, é induzida pela infecção pelo *H. pylori*, o que contribui para a sua cronicidade. A adesina SabA participa da ativação de neutrófilos por mecanismos que não envolvem a opsonização da bactéria (Unem *et al.*, 2005).

Embora estudos de determinantes de virulência específica estejam apenas nas primeiras fases, é certo que a produção da enzima urease pela bactéria tem um papel muito importante na sobrevivência e crescimento desta bactéria no estômago humano, criando uma alcalinização propícia ao seu desenvolvimento. Outros prováveis fatores de virulência incluem adesinas para colonização às superfícies das mucosas, mediadores de inflamação e uma citotoxina vacuolizada que causaria danos às células do hospedeiro. Embora esta bactéria não seja invasora, as infecções não tratadas podem favorecer a persistência do microrganismo durante toda a vida do hospedeiro, apesar de uma significativa resposta imune (Struthers; Westran, 2005).

1.2.3 Transmissão

Klein e colaboradores (1991) sugeriram que a água contaminada por matéria fecal constitui importante fonte de infecção. Em 1994, Kelly e colaboradores conseguiram isolar a bactéria das fezes de indivíduos colonizados. Recentemente foi relatado que o *Hp* pode ser transmitido sexualmente por via oral-anal (Eslick, 2001).

Segundo Bujanover e colaboradores (1997), a aglomeração intrafamiliar também é um fator importante. Drumm e colaboradores (1990) obtiveram sorologia positiva em mais de 80% de irmãos colonizados com a bactéria. Estudos constataram maior incidência de crianças com *H. pylori*, filhos de pais infectados, em relação a crianças cujos pais não eram portadores deste microorganismo (Malaty et al. 1991). Já Langenberg e colaboradores (1990) relataram o risco de transmissão da bactéria através da endoscopia.

Além das causas ambientais que contribuem para a transmissão do *H. pylori*, há estudos que indicam que fatores do hospedeiro exercem importante papel nas taxas de infecção e nas conseqüências patológicas induzidas pelo microorganismo (Sakagami, et al., 1996; Atherton, 1997; Kapadia, 1997).

A dose infectante para aquisição natural da doença é desconhecida. Marshall e colaboradores em 1985, na Austrália, descreveram a infecção após ingestão voluntária de caldo de cultura pura contendo 1×10^1 organismos (Banatvala et al., 1993). O segundo relato de ingestão voluntária com sucesso foi descrito por Morris et al em 1986, empregando-se doses de 3×10^5 organismos. Esta é a dose infectante mínima relatada até hoje em adultos (Kodaira et al., 2002).

A ocorrência de infecção pelo *H. pylori* pós-procedimento endoscópico sugere que uma dose do agente muito menor do que a descrita por Morris e colaboradores (1986) pode ser capaz de estabelecer a infecção.

O ser humano é praticamente o único reservatório natural do *H. pylori* (Fox, 1995; Mendall, 1995). Entretanto, estudos demonstram colonização da bactéria em gatos domésticos, sugerindo que os mesmos possam servir como reservatórios e vetores para o agente (Handt et al., 1994).

O mecanismo exato da transmissão do *H. pylori* é desconhecido; o único fato universalmente aceito é que a bactéria só consegue alcançar a mucosa gástrica pela

boca, pois trata-se de microorganismo não-invasivo (Kodaira *et al.*, 2002). Esse microorganismo é frágil em condições laboratoriais, sugerindo limitada viabilidade fora do hospedeiro (Kodaira *et al.*, 2002).

As altas taxas de prevalência em indivíduos que vivem em condições de aglomeração humana sugerem que a transmissão pessoa-pessoa seja um mecanismo importante na transmissão do agente (Rothenbacher *et al.*, 1998). Entretanto, ainda não é possível determinar se a principal via de transmissão é oral-oral ou fecal-oral. É provável que ambas atuem simultaneamente em níveis populacionais (Kodaira *et al.*, 2002).

Nos países em desenvolvimento, a reinfecção pós-sucesso terapêutico é freqüente (aproximadamente 50% dos casos), atingindo índices de até 100% dos casos ao ano, como se pode observar no Peru (Sack; Gyr, 1993). Entretanto, nos países industrializados, a taxa de reinfecção varia entre 0,6% a 4,7% ao ano (Kodaira *et al.*, 2002).

No Brasil, a taxa de reinfecção é de aproximadamente 13,5% ao ano, fato que provavelmente sub-estima a real incidência da doença (Kodaira *et al.*, 2002).

1.2.4 Transmissão por via oral-oral

O *H. pylori* pode ser detectado na cavidade oral por meio de cultura ou PCR (Polymerase chain reaction) de materiais, como saliva e placa dentária. Em pacientes infectados sintomáticos, o isolamento da bactéria varia de 0 a 100%. Observa-se a mesma discrepância nos resultados obtidos por PCR. Não está estabelecido se a diferença entre os relatos é devida à população examinada, aos métodos de coleta de material e/ou a técnicas laboratoriais (Lambert *et al.*, 1993; Shimada *et al.*, 1994; Bourk *et al.*, 1996; Krajden *et al.*, 1989).

A cavidade oral tem sido proposta como reservatório da infecção e reinfecção pelo *H. pylori*, pois a regurgitação do suco gástrico pode contaminar a boca, predispondo a colonização por essa bactéria por tempo não-determinado. Além disso, observa-se que o tratamento da infecção por *H. pylori* por via sistêmica não erradica o agente em placa dentária, permitindo que a boca atue como reservatório permanente da bactéria (Desai *et al.*, 1991).

Na literatura, vários estudos sugerem importante participação da via oral-oral na transmissão do *H. pylori*. Goodman e colaboradores (1996), na Colômbia, detectaram maior frequência da infecção entre indivíduos que bebem em copos previamente utilizados por outras pessoas e não lavados. Mecanismos de transmissão similares ocorrem na China, onde as pessoas têm o hábito de se alimentar no mesmo recipiente, favorecendo a transmissão do Hp por talheres (chopsticks) contaminados, e na Gâmbia, onde as famílias também fazem suas refeições usando tigelas comuns, alimentando-se com as próprias mãos (Kodaira *et al.*, 2002).

Em Burkina Faso, na África, Albenque e colaboradores (1990) observaram que a pré-mastigação, realizada pelas mães, dos alimentos oferecidos aos filhos foi importante fator de risco para infecção pelo *H. pylori*. Os mesmos autores mencionam também que o fato de as mães assopram o alimento antes de oferecê-lo aos filhos também representa papel significativo na transmissão do *H. pylori* para as crianças.

Em Bangladesh, Clemens e colaboradores (1996) observaram maior incidência da infecção pelo *H. pylori* em crianças hindus em relação às muçulmanas. Os autores admitem que esse fato possa ocorrer devido ao hábito de as mães cobrirem os mamilos com saliva antes do ato da amamentação.

Hipoteticamente, o Hp também pode ser transmitido por via oral-oral entre marido e mulher por meio da saliva contaminada por suco gástrico (Kodaira *et al.*, 2002).

Schütze e colaboradores (1995) descreveram casos de pacientes reinfetados com cepas idênticas às de suas esposas assintomáticas, sugerindo que infecção e reinfecção podem acontecer por disseminação pessoa-pessoa.

O *H. pylori* apresenta alto grau de diversidade genotípica, e a maioria dos indivíduos praticamente carrega cepas com padrão único. A concordância de tipos moleculares encontrados entre membros da mesma família indica que a transmissão ocorre freqüentemente entre esses indivíduos. No entanto, não se pode descartar a possibilidade desses pacientes terem adquirido a doença por exposição à fonte comum de infecção (Nwokolo *et al.*, 1992; Bamford *et al.*, 1993; Georgopoulos *et al.*, 1996).

1.2.5 Transmissão por via fecal-oral

A curva de prevalência da hepatite A relacionada à idade é considerada marcador para transmissão de agentes infecciosos por contaminação fecal-oral (Perez-Perez *et al.*, 1990). Existe um paralelismo muito grande entre os perfis das curvas do *H. pylori* e da hepatite A na maioria das populações estudadas, particularmente nos países em desenvolvimento (Kodaira *et al.*, 2002).

Thomas e colaboradores (1992), em Gâmbia, relataram o isolamento do *H. pylori* em fezes de nove das 23 crianças (39%) com idade entre três e 27 meses; esses resultados foram contestados na época, pois se acreditava que parte das crianças poderia apresentar diarreia, aspectos que, apesar de relevantes, não foram avaliados no estudo (Leverstein-Van *et al.*, 1993).

Após estudos de Thomas e colaboradores (1992), outros autores conseguiram isolar o agente em fezes de pacientes que não apresentavam diarreia. Na Inglaterra, cultivaram o Hp nas fezes de 12 (48%) dos 25 indivíduos colonizados. A alta taxa de sucesso em relação aos estudos anteriores foi atribuída ao método empregado. Kelly e colaboradores (1994) utilizaram o sobrenadante obtido após centrifugação das fezes, em vez de cultura de todo o material fecal.

Apesar da constatação de que o *H. pylori* pode ser eliminado pelas fezes, não se conhece o mecanismo exato de transmissão do agente por essa via, assim como a real importância epidemiológica desse processo (Kodaira *et al.*, 2002).

Em relação à transmissão por via fecal-oral em nível populacional, a disseminação de doenças infecciosas pela água baseia-se em sua contaminação por fezes (Kodaira *et al.*, 2002). Westblom e colaboradores (1993) detectaram presença de *H. pylori* por PCR em água de esgoto tratada, na cidade de Lima (Peru).

Estudo epidemiológico realizado por Klein e colaboradores (1991), em Lima, verificou que crianças que consomem água fornecida por rede municipal apresentam risco três vezes maior de contrair a infecção pelo *H. pylori* que aquelas cujas residências são supridas por fonte de água da comunidade.

Hopkins e colaboradores (1993), no Chile, e Goodman e colaboradores (1996), na Colômbia, demonstraram maior soropositividade pelo *H. pylori* nos

indivíduos que consumiam vegetais crus. Esses alimentos são potenciais veículos de transmissão, pois podem ser contaminados pela água durante a irrigação ou durante a lavagem para o consumo.

Sasaki e colaboradores (1999) constataram a presença de *H. pylori* por PCR em vários elementos presentes na natureza (água potável, de rio e de lago, terra do solo, moscas e estrume de vaca), em uma região do Japão onde a incidência da infecção pelo Hp é elevada.

1.2.6 Transmissão iatrogênica ou gastro-gástrica

Apesar de o isolamento do Hp no suco gástrico de pacientes infectados variar de 0% a 58% das amostras estudadas, esse material é rico em *H. pylori* (cerca de 200 unidades bacilares /ml), podendo servir como fonte de infecção, particularmente durante os procedimentos diagnósticos realizados por via endoscópica (Vincent *et al.*, 1991).

Instrumentos utilizados durante biópsia por via endoscópica freqüentemente continuam contaminados pelo Hp, mesmo após desinfecção com álcool ou glutaraldeído a 2% (Langenberg *et al.*, 1990; Roosendaal *et al.*, 1994; Fantry *et al.*, 1995).

Langenberg e colaboradores (1990) sugerem que o uso de instrumentos limpos manualmente com detergente e desinfecção por 3 minutos em álcool hidratado a 70% oferecem 1,1% de risco de transmissão do Hp.

Katoh e colaboradores (1993) examinaram material endoscópico lavado manualmente com Hyamine®, método amplamente utilizado para limpeza de fibroscópio, e detectaram positividade para *H. pylori* em 50% das amostras e por cultura em 19%. Nesse estudo, nenhum agente pôde ser isolado do fibroscópio após lavagem mecânica.

1.3 Correlação entre a colonização pela *H. pylori* e doenças do estômago

O *Helicobacter pylori* pode causar uma gastrite aguda transitória, por isso mal conhecida, evoluindo em pouco tempo para gastrite crônica. Os pacientes com

gastrite crônica infectados pelo bacilo *Hp* costumam melhorar quando tratados com agentes antimicrobianos, e as recaídas estão associadas com reaparecimento desse organismo. Em sua maioria, as pessoas infectadas continuam assintomáticas, mas corre um maior risco para o surgimento de doença ulcerosa péptica e, possivelmente, câncer gástrico (Pereira *et al.*, 2001).

A gastrite crônica causada pelo *H. pylori*, em determinadas condições estão relacionadas com a virulência de certas estirpes do *Helicobacter pylori*, e com certos genes do hospedeiro, evolui para gastrite atrófica e metaplasia intestinal que pode ocorrer raramente em alguns casos, e em circunstâncias especiais, evolui para carcinoma gástrico (Fox; Wang, 2002).

A infecção pelo *H. pylori* é considerada a principal causa de gastrite crônica ativa. Estudos sugerem que esse agente desempenha importante papel na gênese da úlcera péptica (Pereira *et al.*, 2001).

Até pouco mais de uma década, a patogênese da gastrite, úlcera gástrica, duodenite e úlcera duodenal era atribuída basicamente ao desequilíbrio entre mecanismos de defesa do hospedeiro e secreção ácida (Silva *et al.*, 2004). Diferentes estudos indicam que o câncer gástrico está fortemente relacionado a fatores ambientais, como a infecção pelo *Helicobacter pylori*, que leva a processo inflamatório com conseqüente indução de danos oxidativos, que podem estar relacionados a condições pré-neoplásicas (Baik *et al.*, 1996; Fox; Wang, 2002).

Indivíduos infectados pelo *H. pylori* e com história de câncer gástrico familiar podem apresentar risco até 16 vezes maior de desenvolvimento de câncer gástrico do que indivíduos não-infectados e sem história familiar (Sepúlveda, 2001). Provavelmente tais indivíduos estão infectados pelas mesmas cepas de *H. pylori* e apresentam resposta inflamatória similar. O aumento do risco para câncer gástrico pode estar relacionado a diferenças na expressão de produtos bacterianos específicos, a diferentes respostas do hospedeiro ou a diferentes interações entre a bactéria e o hospedeiro (Peek *et al.*, 1997).

A alta incidência de infecção por *Helicobacter pylori* em portadores de adenocarcinoma gástrico (acima de 70%) levou a Internacional Agency for Research on Câncer (IARC) a classificá-lo como agente carcinogênico do grupo I para o

câncer de estômago. Há dois tipos de adenocarcinoma gástrico relacionado com *Helicobacter pylori*, sendo o intestinal o tipo mais comum (IARC, 2007).

Os mecanismos que implicam o *H. pylori* na etiopatogenia do carcinoma gástrico ainda não estão devidamente esclarecido, mas a infecção por esta bactéria tem sido relacionada com o linfoma gástrico e, embora existam controvérsia, também ao adenocarcinoma (McColl, *et al.*, 2002).

Outras afecções associadas à infecção pelo *H. pylori* são linfoma de tecido linfóide associado à mucosa gástrica, dispepsia não-ulcerativa (Unemo *et al.*, 2005), doenças coronarianas e cardiovasculares, urticária idiopática crônica (Rebora *et al.*, 1995; Tebbe *et al.*, 1996) e doenças auto-imunes (púrpura de Henoch-Shönlein) (Reinauer *et al.*, 1995).

1. 4 Aspectos Epidemiológicos

A bactéria Hp apresenta distribuição cosmopolita, sendo encontrada em habitantes dos cinco continentes (Oliveira *et al.*, 1999; Go, 2002).

Os estudos epidemiológicos têm demonstrado que aproximadamente 50% da população mundial está infectada com este microorganismo, sendo que a sua prevalência é maior em países em desenvolvimento do que em países desenvolvidos (Mitchell *et al.*, 1992; Blaser; Berg, 2001).

A prevalência da infecção pelo *H. pylori* varia com a idade, o nível socioeconômico e a raça. Estudos sorológicos demonstraram que a prevalência de infecção por *H. pylori* aumenta com a idade e é maior nos países em desenvolvimento (Logan; Walker, 2001).

A infecção pelo *H. pylori* provoca grande desconforto em milhares de pessoas e leva à morte pelo menos 1 milhão de indivíduos anualmente, dada sua abrangência. Esses fatos têm sido subestimados pelas autoridades de saúde pública e por especialistas em doenças infecciosas (Tebbe *et al.*, 1996; Ladeira *et al.*, 2005).

Embora possa ser adquirido precocemente durante a infância ou adolescência, seu modo exato de transmissão ainda é desconhecido. As rotas oral-oral e fecal-oral têm ainda sido propostas como as possíveis vias de transmissão da bactéria (Thomas, 1994).

A presença desta bactéria está associada à baixa condição socioeconômica, maior densidade de moradia, baixo nível educacional, baixas condições de saneamento básico e fatores dietéticos (Toyonaka *et al.*, 2000).

Os estudos que avaliam o papel dos pais na transmissão da infecção demonstraram uma associação forte entre o status maternal infectado por Hp e filhos, sugerindo que a transmissão mãe-filho tem um papel principal na propagação da infecção (Malaty *et al.*, 2000; Rocha *et al.*, 2003).

Em pessoas saudáveis, assintomáticas, a prevalência de *H. pylori* está aumentada conforme progride a idade: assim, em pessoas com menos de 30 anos há uma prevalência de aproximadamente 10%, ao passo que em pessoa com mais de 60 anos esta prevalência aumenta para cerca de 60%. A prevalência é notadamente maior em países pobres e/ou subdesenvolvidos, quando comparada com países desenvolvidos (Blaser; Parsonnet, 1994).

Em crianças abaixo de 10 anos de idade, a taxa de prevalência é de aproximadamente 0,5 a 5% em países desenvolvidos, e de 13 a 60% em países em desenvolvimento. A incidência (taxa de aquisição) da infecção pelo *H. pylori* é estimada em 3 a 10% ao ano nos países em desenvolvimento, e de 1% nos países desenvolvidos. A incidência após os 10 anos é aproximadamente de 1% ao ano, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (Agostino-júnior, 2003).

O desafio agora consiste em definir a sua correlação na etiologia do câncer gástrico, em especial o adenocarcinoma de antro (Parsonnet, 1991; Parsonnet *et al.*, 1996). Diversos estudos demonstram que o controle da infecção reduz a ocorrência de gastrite crônica e úlcera péptica, e teoricamente diminui o risco de um dos cânceres mais fatais, com impacto social e econômico importantes (Rosandic *et al.*, 2002; Gutierrez *et al.*, 2003; Bittencourt *et al.*, 2006).

Há pouco conhecimento sobre a história natural da infecção por *H. pylori* em portadores assintomáticos ou com pouca sintomatologia, fatores de susceptibilidade, e o modo preciso de transmissão da bactéria, bem como o impacto de seu tratamento em indivíduos de baixa renda, que têm mais risco de infecção e de reinfecção, e assim sendo, adquirindo bactérias de linhagens diferentes (Costas *et al.*, 1991). A resistência à erradicação da bactéria em portadores de baixas condições socioeconômicas se dá pela falha ou ausência da terapêutica, já que um

programa multidrogas seria dispendioso, devida a alta taxa de reinfecção da Hp no estômago, devido à contínua exposição ao agente, dieta deficiente, educação limitada e alcoolismo (Cover; Blanke, 2005).

Embora existam poucos estudos de casos-controles conduzidos em países em desenvolvimento, alguns pesquisadores brasileiros (Coelho *et al.*, 1995) observaram que a taxa de reinfecção após o primeiro ano de aplicação do programa triplice padrão para erradicação de Hp, era de 31% em indivíduos de baixa renda quando comparados com os de renda elevada 9%. Esta última situação reflete a realidade de países como Austrália, Finlândia, Áustria, França, Bélgica e Reino Unido (Parsonnet *et al.*, 1996).

Além disso, Goodman & Correa (1995), em seus estudos sobre a transmissibilidade do agente encontraram relação entre a implantação do microorganismo com a desinfecção inadequada de sondas durante procedimentos de endoscopia. Por fim, chama atenção para o grande número de indivíduos contaminados, fato que poderia ser facilmente evitado com medidas simples e já padronizadas de higiene.

1.5 No Brasil

No Brasil os estudos sobre a prevalência da infecção para Hp em crianças, são poucos e se limitam a algumas regiões. Embora o conhecimento sobre a sua epidemiologia em crianças seja limitado, já que a maioria dos estudos foi realizada em adultos e também porque há dificuldades em se saber quando a infecção é inicialmente adquirida, pode-se afirmar que, semelhantemente ao que ocorre com outros patógenos entéricos, a infância representa a fase de máxima suscetibilidade para infecção pelo *Helicobacter pylori* (Graham *et al.*, 1991).

Acredita-se que mais de um terço dos carcinomas gástricos seja atribuído à infecção pelo *H. pylori* (Roma *et al.*, 2001; Bittencourt *et al.*, 2006).

No Brasil, o câncer gástrico é a segunda neoplasia mais freqüente em pacientes do sexo masculino e a quarta em pacientes do sexo feminino (proporção de 3:1) (INCA, 2007).

Em estudo realizado em Belo Horizonte com indivíduos entre sete meses e 16 anos, observou-se que o indivíduo mais jovem infectado tinha 3 anos e que a positividade de infecção pela bactéria aumentava com a idade, atingindo 82% dos indivíduos maiores de 12 anos (Carvalho *et al.*, 1991). Estes dados são similares aos encontrados por Coelho e colaboradores (1987) em adultos sintomáticos na mesma cidade. A grande maioria dos pacientes, nos dois estudos, era de baixo nível socioeconômico.

Vários estudos demonstram que a prevalência de infecção do *H. pylori* na população brasileira é alta, tendo uma média de 88,7 % de prevalência (**Tabela 1**).

Tabela 1. Prevalência de infecção da Hp na população brasileira.

Estado	Localidade	Prevalência	Referência
São Paulo	São Paulo	76,3%	Ferrari <i>et al.</i> , 1989
São Paulo	Campinas	89,6%	Magalhães <i>et al.</i> , 1991
Rio Grande do Sul	Santa Maria	83%	Mello; Melo, 1991
Rio de Janeiro	Rio de Janeiro	59,5%	Solari <i>et al.</i> , 1994
Maranhão	São Luís	96%	Bezerra <i>et al.</i> , 1996
São Paulo	Botucatu	85,18%	Ladeira, 1997
Mato Grosso	N ^a S ^a do Livramento	84,7%	Souto <i>et al.</i> , 1998
Minas Gerais	Araçuaí	87%	Oliveira <i>et al.</i> , 1999

Dentre os poucos trabalhos feitos na população de Pernambuco, Moraes & Silva (2003) observaram em crianças de escolas públicas uma prevalência do *Helicobacter pylori*, em 25,8% nos pré-escolares e de 39,4% nos escolares.

1.6 Diagnóstico da Infecção pelo *H. Pylori*

A presença do *Helicobacter pylori* pode ser pesquisada em fragmentos de mucosa gástrica obtidos à endoscopia através de cultura, em estiraços corados, pela pesquisa de urease pré-formada, em cortes histológicos e através de técnicas de biologia molecular. Podem ser empregadas ainda técnicas para a detecção de

anticorpos anti-Hp no soro, suco gástrico, saliva ou urina e o teste respiratório com uréia marcada com C¹³ ou C¹⁴. (Suto *et al.*, 2000; Ogata *et al.*, 2001).

A infecção persistente pelo Hp está relacionada com gastrite atrófica e metaplasia intestinal. A metaplasia intestinal e a distribuição irregular do Hp são os possíveis fatores para o diagnóstico falso negativo. Há vários estudos relacionando número de bacilos com a localização das biópsias no antro ou corpo gástrico para o diagnóstico. Genta & Graham (1998) realizaram duas biópsias de antro (1 de pequena curvatura e 1 de grande curvatura) e obtiveram sensibilidade histológica de quase 100%; recomendaram 3 biópsias (1 de pequena e grande curvatura de antro e 1 da grande curvatura de corpo) como rotina para a detecção do Hp, pois no estudo não havia pacientes com gastrite atrófica extensa e metaplasia intestinal. Já Satoh e colaboradores (1998) observaram que a taxa de detecção do Hp pela biópsia antral diminui de acordo com a extensão da gastrite atrófica e o local para a melhor detecção do Hp foi a grande curvatura. Embora a maioria dos métodos apresente sensibilidade e especificidade elevadas, recomenda-se o emprego de pelo menos dois métodos para um diagnóstico mais acurado.

O isolamento do agente infeccioso através da cultura não está disponível na prática clínica. Assim, sugere-se para o diagnóstico o emprego do teste da urease pré-formada associado ao exame de cortes histológicos corados; ou a pesquisa da urease, pré-formada associada ao exame de estiraços corados, por serem métodos sensíveis, específicos, de baixo custo e fácil realização (Glupczynski, 1996).

O teste da urease consiste em introduzir um fragmento de mucosa de antro gástrico em um meio contendo uréia (substrato) e vermelho de fenol (indicador de pH). O *H. pylori* produz a urease que prove a degradação da uréia em amônia, com aumento do pH e mudança da cor do meio de amarelo para rosa. Entretanto, este teste requer mais de 100.000 bactérias para produzir um teste positivo e tem uma sensibilidade limitada (89,6%), especialmente após erradicação. O tratamento recente com antimicrobianos, drogas contendo bismuto, bloqueadores H₂ e inibidores da bomba de prótons podem causar um resultado falso-negativo pela diminuição do número de bactérias. Pacientes com hemorragia digestiva alta ativa ou recente e conteúdo gástrico sanguinolento podem produzir resultados falso-negativos (Struthers; Westran, 2005).

Fragmentos endoscópicos de mucosa gástrica corados pela técnica de Gram ou da carbolfucsina são simples, de fácil execução e apresentam sensibilidade e especificidade ao redor de 90% quando comparados à cultura (Struthers; Westran, 2005).

Vários métodos podem ser empregados para a demonstração do microorganismo em fragmentos de mucosa gástrica fixados em formol e incluídos em parafina. Devem ser empregados, de preferência, dois fragmentos do antro gástrico. Cortes histológicos podem ser corados pelo Gram, pelo Giemsa modificado ou não (**Figura 3**), pela impregnação por prata, de acordo com a técnica de Warthin Starry, ou de Gimenez e pela carbolfucsina. As colorações pelo Giemsa e pela carbolfucsina representam boas alternativas para a identificação do *H. pylori* em cortes histológicos, pois, além de sensíveis, são de fácil execução e baixo custo (Custódio *et al.*, 2005)

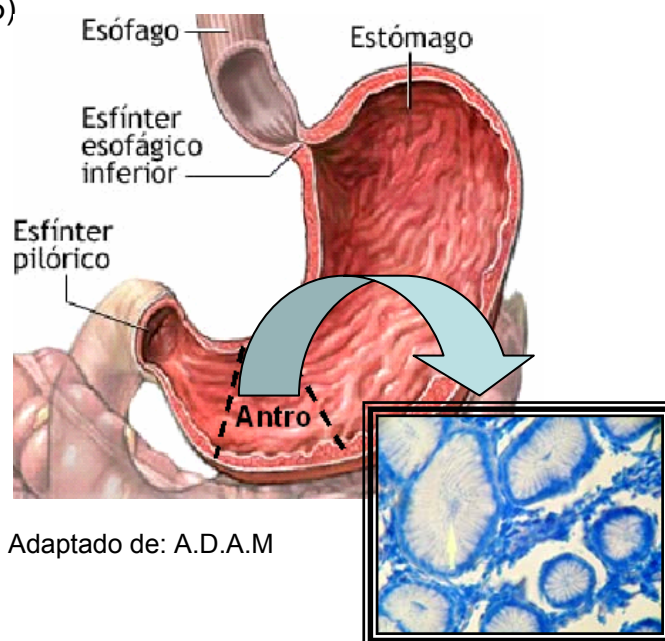


Figura 3. Esquematização anatômica do estômago e corte histológico da região do antro corado pela técnica de Giemsa (10x).

Esses métodos, especialmente ELISA e imunofluorescência indireta, por dispensarem a endoscopia, vêm sendo empregados, não apenas para diagnóstico, mas, principalmente, para estudos epidemiológicos (Opekun *et al.*, 2006).

A erradicação da infecção pelo *H. pylori* é avaliada por cultura e histopatologia de material obtido por biópsia endoscópica de região antral da mucosa gástrica,

quatro semanas após o término da antibioticoterapia (Van Der Hulst *et al.*, 1996; Kodaira *et al.*, 2002).

Mesmo após erradicação bem-sucedida, pode ocorrer a reinfecção, pois a resposta imunológica gerada durante a infecção por *H. pylori*, apesar de intensa, não protege contra infecções subseqüentes. Estudos clínicos e moleculares, porém, indicam que a recrudescência da infecção e a transmissão iatrogênica são responsáveis por grande parte dos casos de soroconversão pós-tratamento, particularmente quando ocorrem nos primeiros 12 meses após a erradicação do agente (Coelho *et al.*, 1992; Cutler; Schubert, 1993; Ghoneim *et al.*, 1996; Kodaira *et al.*, 2002).

1.7 Análise digital de Imagens em Patologia

Atualmente, vários trabalhos demonstram a importância da informatização de ferramentas tecnológicas para pesquisas científicas na área de microbiologia aplicada e de diagnóstico com utilização de softwares de análise de imagem, proporcionando resultados padronizados, mais rápidos e confiáveis (Reinhard *et al.*, 2000; Pons; Vivier, 2000; O' Mahony *et al.*, 2005).

Os mais diversos métodos de análise tem sido aplicados para traduzir de forma mais objetiva e numericamente representativa as transformações que ocorrem nas células (Francis *et al.*, 2000). Seja através da análise colorimétrica de células neoplásicas em cultura (Alley *et al.*, 1991), variações morfométricas nucleares (Roels *et al.*, 2000), captação de imagens de tecidos inflamados do estômago (Latham; Oppenheimer, 1999; Boag *et al.*, 2001) ou microscopia e histopatologia do trato gastrointestinal (Helin *et al.*, 2006).

No apoio à interpretação dos resultados obtidos pela histoquímica de células gástricas e intestinais, os sistemas computadorizados de análise de imagens tem fornecido dados qualitativos e quantitativos mais refinados esclarecendo assim, vários aspectos histomorfológicos das neoplasias (Demirkaya *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2000; Ladeira *et al.*, 2005).

A análise digital de imagens é de grande importância para o diagnóstico, especialmente nos casos onde a suspeita clínica prevalece mesmo após uma biópsia negativa (Montironi *et al.*, 2000).

O avanço da computação digital tem oferecido grandes benefícios na discriminação e estudo estatístico de dados numéricos. A possibilidade da utilização de ferramentas computacionais na construção de gráficos complexos, avaliação dos padrões de cor e capacidade de armazenar imagens, tem sido amplamente utilizada nas análises morfométricas de padrões histológicos e citológicos (Hamilton *et al.*, 1997; Lambert *et al.*, 2001; Melo-Jr *et al.*, 2003).

Inúmeras técnicas morfométricas foram desenvolvidas durante os últimos anos com a expectativa de introduzir na prática da patologia critérios objetivos e reproduzíveis relacionados ao diagnóstico e ao prognóstico de doenças. Contudo, os estudos quantitativos não foram inicialmente considerados práticos devido à complexidade das técnicas e o longo tempo necessário para o processo (Bartels; Thompson, 1994).

Com o avanço dos componentes computacionais, novos métodos para captação e tratamento de imagens têm facilitado cada vez mais a precisão das informações devido à capacidade de se realçar, excluir e delimitar certas características obtidas pela imagem digital. Estas imagens digitais são representadas por uma matriz cujos elementos são chamados pixels (picture elements) que representam a unidade fundamental de análise de uma figura através de tonalidades específicas de cor (Synopsis, 1996).

Programas computacionais cada vez mais especializados, em análise de parâmetros microscópicos possibilitam, se tornar uma prática freqüente nos laboratórios, seja para pesquisa ou diagnóstico de rotina (Hamilton *et al.*, 1997; Barbosa-Júnior *et al.*, 2001).

As vantagens da mensuração das estruturas biológicas na histopatologia e na citopatologia incluem: diminuição da variabilidade na quantificação dos aspectos celulares e teciduais; promoção de uma escala numérica e reprodutível dos aspectos qualitativos; aumento da sensibilidade na detecção de alterações mínimas; avaliação dos efeitos de diferentes métodos de processamento histológico; emprego no controle de qualidade; determinação da forma e tamanho padrões para ensino e

diagnóstico; maximização como ferramenta de pesquisa (Hamilton; Allen, 1995; True *et al.*, 1996).

Através da análise computadorizada de imagens podem ser processadas medidas lineares, contagem de objetos, determinação de forma, estereologia, além de mensurações mais complexas e multiparamétricas (Bartels; Thompson, 1994; True, 1996; Oberholzer *et al.*, 1996). Estes novos parâmetros têm servido como auxiliares no diagnóstico de doenças gastro-intestinais dos mais variados tipos (Novik, 2000; Rubegni *et al.*, 2001).

Avaliações histológicas através da imunohistoquímica (Weinberg *et al.*, 1994), imunofluorescência (Waggoner *et al.*, 1996), densitometria do DNA (Cohen *et al.*, 1996) e reconstrução tri-dimensional de estruturas (Whimster; Cookson, 1995), conjugados a métodos morfométricos computadorizados, tanto no modelo experimental (Figueiredo-Silva *et al.*, 1999), como em seres humanos (Maia *et al.*, 1999) tem fornecido resultados mais precisos e completos para os mais diversos tipos de alterações morfológicas nos tecidos.

Através da captação de imagens histológicas pelo computador novas aplicações têm surgido no intuito de agilizar o fluxo de informações sobre temas e problemáticas no campo da interpretação das diversas alterações morfológicas e até bioquímicas dos ambientes celulares durante as mais variadas situações de estresse resultando numa maior precisão dos resultados obtidos (Rashbass *et al.*, 2000; Furness; Rashbass, 2000; Petersen *et al.*, 2000).

Esta opção metodológica tem se apoiado cada vez mais em novas tecnologias permitindo a troca de informações e resultados de estudos em tempo real através da captação e análise de imagens utilizando-se da rede mundial de computadores / internet (Eusebi *et al.*, 1997; Strauchen *et al.*, 2000; Demartines *et al.*, 2000).

Os dois métodos básicos para realizar medições aplicando-se sistemas computacionais são: sistema interativo de análise de imagens através de um operador para definir as estruturas de interesse usando cursores ou canetas digitais; sistema automático de análise de imagens que através de vídeo câmera acoplada captura as imagens histológicas para serem armazenadas na memória do computador (Hamilton *et al.*, 1997; Lambert *et al.*, 2001).

Somando-se a tudo isso, a tecnologia da análise computadorizada de imagens de biópsias de estômago tem demonstrado um enorme avanço no entendimento da biologia e patobioquímica das doenças inflamatórias do trato gastrointestinal, bem como fornecendo diretrizes para novas formas diagnósticas e terapêuticas (Ladeira *et al.*, 2005).

2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

É crescente o interesse sobre os mecanismos envolvidos na carcinogênese gástrica, em parte devido à redescoberta do *Helicobacter pylori* e à constatação de que a infecção por esse microrganismo é um fator de risco para permanência dos quadros graves de gastrite (Rodrigues *et al.*, 2001; Bittencourt *et al.*, 2006).

Existem poucos dados sobre a incidência de Hp e sua correlação com os principais achados histopatológicos na população de portadores de doenças gástricas em Pernambuco. Além disso, cada vez mais tem se buscado obter dados qualitativos e quantitativos mais refinados esclarecendo assim, vários aspectos histomorfológicos das doenças inflamatórias gástricas.

Assim, com a introdução de ferramentas, como os sistemas morfométricos computadorizados; novas informações têm sido obtidas sobre essa complexa interação bacilo-mucosa gástrica.

Neste intuito, nos propomos utilizar um sistema digital de análises de imagens para obter dados quantitativos sobre o estado de colonização do Hp em biópsias gástricas com quadros de doenças inflamatórias, bem como realizar um estudo de prevalência para infecção pelo *H. pylori*.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Proceder estudo epidemiológico da infecção do Hp em biópsias de pacientes portadores de lesões gástricas em Pernambuco e avaliar, a correlação entre a prevalência de *Helicobacter pylori* e os aspectos histopatológicos da mucosa gástrica.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Comparar os parâmetros, sexo, faixa etária, prevalência de *H. pylori* de pacientes portadores de doenças inflamatórias gástricas do estado de Pernambuco, desta forma, também correlacionando os com dados obtidos na análise histomorfométrica.

3.2.2 Avaliar a densidade média de bacilos Hp em biópsias de mucosa gástrica;

3.2.3 Correlacionar a densidade média de bacilos com os padrões histopatológicos encontrados na mucosa.

Análise histomorfométrica de lesões gástricas relacionadas à infecção pelo *Helicobacter pylori*

Luciano de Albuquerque Mello, Msc^{1,2}

Mario Ribeiro Melo-Júnior, Dr^{1,3}

Nicodemos Teles de Pontes Filho, Dr^{1,4}

1. Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA); 2. Faculdade de odontologia do Recife (FOR); 3. Associação Caruaruense de Ensino Superior (ASCES); 4. Departamento de Patologia CCS/UFPE.

Correspondência:

Luciano de A. Mello - Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, LIKA, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE. Av. Moraes Rêgo s/n, Campus Universitário - 50670-910, Brasil. Tel/Fax: (081) 3271 8484/3271 8485 E-mail: lucianoamello@hotmail.com

ABSTRACT

The bacillus *Helicobacter pylori* is now accepted as the most important agent of gastritis in humans and as a risk factor for ulcer disease and gastric carcinoma ethiopathogenesis. It is estimated that 50% of the world's population is infected by this bacteria. Nowadays, only subjective and qualitative analyses were done for *H. pylori* colonization diagnostic. The aim of the present study is to evaluate quantitatively the gastric colonization for *H. pylori* in patients with different gastric lesions (active gastritis and ulcer). For histopathologic study, tissue samples were obtained from patients (95 males and 144 females, mean age 45 years) providing of different municipalities from State of Pernambuco. The biopsies were fixed in buffered formalin, processed according to histologic routine. Tissue sections (4 μ m) were stained with Giemsa reaction and evaluated through optical microscopy. The histomorphometric study through digital image analysis was carried out using a workstation consisting of a standard light microscope equipped with a digitalizing camera connected to a desktop personal computer. Image storage and retrieval was managed using the OPTIMAS[®] software system. The results indicated a prevalence of 39% into gastric inflammatory lesions associated to Hp infection with higher occurrence (60.3%) in the female patients and mean age range from 31 to 45 years old. The gastric lesion more frequent was active chronic gastritis (90.2%) of all studied case. In correlation between the colonization and lesion type, the results had shown a strong association between higher colonization and active gastritis diagnosis. On the other hand, there was a positive correlation between qualitative diagnosis (semi-quantitative analysis) and morphometrical test (mean number of *Helicobacter pylori* bacillus). In conclusion, this findings suggesting that gastric mucosa with *Helicobacter pylori* infection studies are needed to better determine the different aspects of gastric lesions after infection evolution in the human groups, could be represent a risk factor to the development of the lesions more complex, like a gastric cancer.

Keywords: Gastritis, *H. pylori*, Image analysis, morphometry.

1. INTRODUÇÃO

No que se refere, a processos inflamatórios gastrointestinais, a gastrite ainda é um assunto complexo, sendo propostas várias classificações clínicas e histopatológicas para essa doença. Dentre os aspectos patognomônicos bastante encontrados é a infecção concomitante com a bactéria *Helicobacter pylori* (Hp)¹². O reconhecimento da Hp, como principal agente etiológico das gastrites, por Marshall & Warren (1984) que em 2005 foram premiados pelo prêmio Nobel de Medicina¹².

O *Helicobacter pylori* é um bacilo micro-aerófilo, gram negativo encontrado quase exclusivamente na mucosa gástrica²⁴, sendo identificado como um dos agentes causais da gastrite crônica ativa, estando associado também a doenças pépticas ulcerativas e ao aumento do risco de surgimento do adenocarcinoma gástrico³¹.

A etiopatogênia na indicação do tratamento da *H. pylori* em pacientes portadores de linfoma no tecido linfóide associado à mucosa¹⁸ e a relação com o desenvolvimento de câncer gástrico vieram a realçar a importância das biopsias endoscópicas para caracterização histológica das gastrites associadas ao *H. pylori*²⁹.

O exame histopatológico para identificação do Hp requer além da coloração de rotina (HE), colorações especiais, como a impregnação pela prata de Warthin-Starry, método este laboroso e caro para utilização na prática. A coloração pelo Giemsa, por outro lado, é um método amplamente empregado de reconhecida eficiência e de baixo custo²¹.

Associado a estes métodos mais tradicionais tem-se investigado a utilização dos sistemas de análise de imagens^{3 28}.

Atualmente, a gastrite associada à Hp é a forma de gastrite de maior incidência no mundo ocidental. A Hp está presente em 95% dos casos de gastrite ativa localizada no antro e em 65% dos casos de gastrite inativa³⁵.

Várias evidências têm tentado relacionar a infecção crônica por Hp com diversas doenças de diferentes áreas orgânicas, com ênfase maior naquelas do trato gastrointestinal. Nesse contexto, o interesse por essa bactéria gerou incontáveis projetos de pesquisa, estando atualmente bem estabelecida a participação da *Helicobacter* na patogênese da gastrite crônica e úlcera péptica^{5 32 35}.

Estudos recentes indicam que a prevalência da infecção em adultos de países desenvolvidos aumentou de 10-50%, enquanto que em países em desenvolvimento este índice é de 80-90%^{10 35 36}.

Existem poucos estudos realizados no Brasil sobre a incidência de lesões gástricas associados a colonização por Hp. Embora evidências recentes demonstrem que hábitos e culturas diferentes apresentam diferentes padrões de lesões gástricas associadas a infecções¹⁵.

Baseando-se nesses dados, o presente estudo pretendeu avaliar a possível correlação entre a prevalência de Hp e as alterações histopatológicas na mucosa gástrica de pacientes de diferentes localidades do estado de Pernambuco, bem como, utilizar um método morfométrico, através de um sistema de análises de imagens para estimar a densidade média de bacilos associadas as lesões gástricas.

2. MATERIAL & MÉTODOS

2.1 Seleção dos casos

Foram selecionados 239 blocos de parafina contendo fragmentos de mucosa gástrica medindo em média 0,3x0,3x0,2 cm, obtidos através de exame endoscópico realizado em pacientes de 42 municípios do estado de Pernambuco-Brasil, os laudos histopatológico assim como todo material examinado foi proveniente dos arquivos do setor de Patologia do LIKA-UFPE, coletado no período de março a abril de 2007.

2.2 Procedimento histoquímico

Os cortes histológicos foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE) para o estudo histopatológico, realizado por dois patologistas cegos ao estudo. Após isso, as amostras selecionadas foram submetidas a técnica de Giemsa, para evidenciação dos bacilos Hp. Todos os protocolos histoquímicos foram desenvolvidos segundo Spicer (1987)⁴².

2.3 Análise Digital de Imagens

Para a análise microscópica foi feito estudo convencional e bidimensional dos tecidos marcados utilizando-se câmara clara.

Os cortes histológicos empregados para análise da densidade de bacilos Hp foram examinados utilizando uma estação digital de imagem composto de um microcomputador com programas de controle de captura e análise automáticas de imagens (Bioscan[®], Image Hyperlink[®] e Optimetric[®]) interligado a uma câmera de vídeo JVC, modelo CV-730, e esta a um microscópio óptico (Leica, modelo ATC 2000) (figura 1).

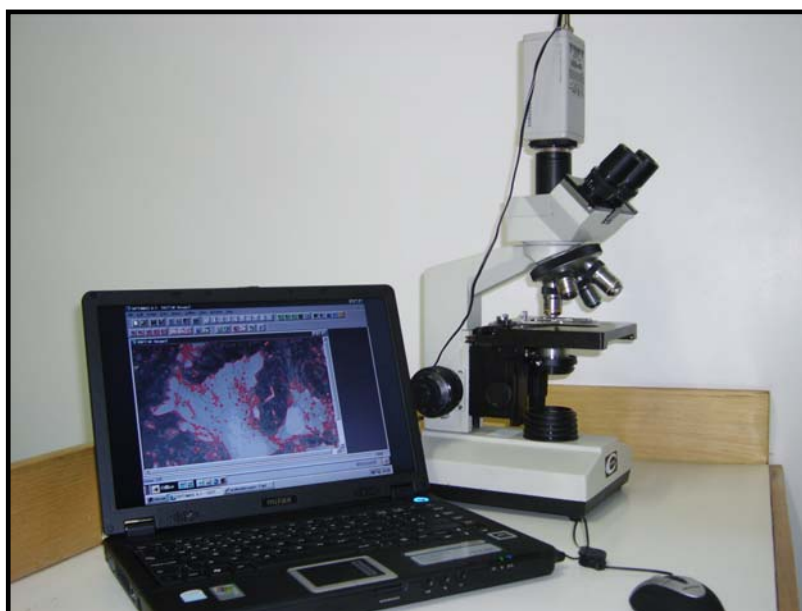


Figura 1. Estação digital para análise de imagem.

Neste sistema as imagens coloridas captadas e digitalizadas foram convertidas em imagens com diferentes tonalidades de cinza e arquivadas (figura 2). Para o estudo de determinada imagem de interesse executava-se a transformação da imagem em formato bidimensional (2D), que foram medida em Pixels (Picture elements), e em seguida convertida em μm (micrômetros) conforme o aumento conferido pela magnificação escolhida. As funções matemáticas para medidas morfológicas, foram executadas automaticamente utilizando-se o programa

OPTIMAS[®] (Optimas Corporation, Washington, USA) com linguagem orientada para leitura de imagem, instalado em microcomputador.

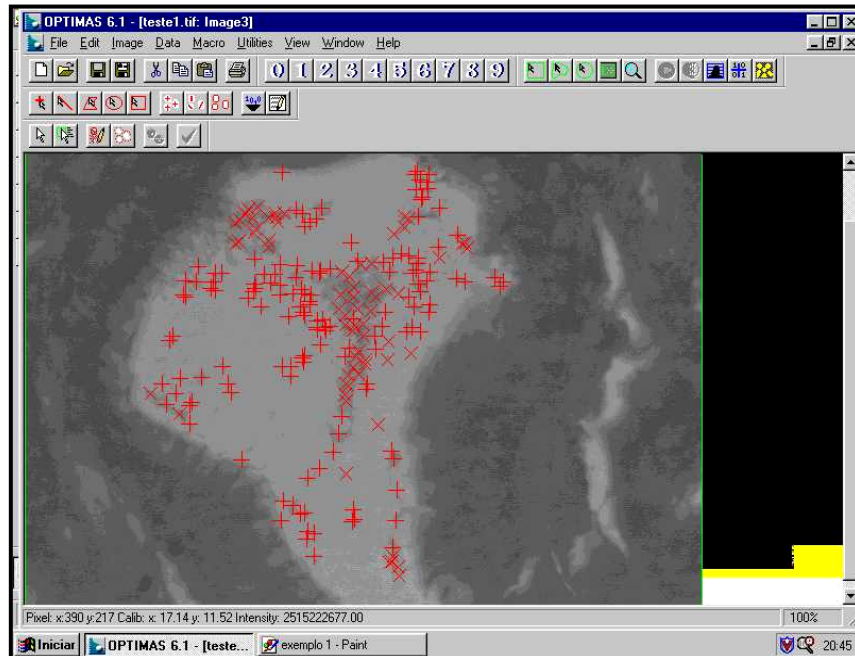


Figura 2. Imagens coloridas convertidas em imagens com diferentes tonalidades de cinza (Digitalização da imagem).

A metodologia acima descrita foi utilizada para calcular a densidade de bacilos Hp por área (μm^2). Em cada corte histológico captava-se aleatoriamente imagens (magnificação 100x) de três áreas (medindo cada uma delas 512 x 512 pixels = 12.234 μm^2).

Para minimizar distorções nos valores das medições devido a presença de áreas não marcadas, aplicou-se um Fator de Correção (FC) de acordo com a equação $FC = s/S$, onde s é o valor da área superficial marcada e S a área total medida⁴³.

2.4 Análise estatística

As medidas obtidas foram submetidas ao estudo estatístico utilizando-se os testes t de student ou Tukey conforme os dados analisados, através do software PRISMA® 4.0. Em todos os casos foi considerado como nível de significância um valor $p < 0,05$ para rejeição da hipótese nula.

2.5 Aspectos Éticos

O referido trabalho protocolado sob o nº 306/06 foi aprovado em 08/03/2007 de acordo com a resolução de nº 196/96 do conselho Nacional de Saúde, pelo comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco- CEP/CCS/UFPE.

3. Resultados e Discussão

3.1 Aspectos gerais relacionados à infecção pelo Hp e lesões gástricas

A infecção pelo *H. pylori* (Hp) ocorre em todo o mundo, mas há diferenças substanciais da prevalência da infecção dentro e entre países. Em países industrializados, a taxa total da infecção em adultos varia de 20-50%, comparado com cerca de 80% ou o mais em outros países^{16 35}.

No Brasil, os estudos sobre as taxas de prevalência sorológica do *H. pylori* ainda não abrangeram faixa representativa da população, visto terem sido elaborados em poucos estados do país⁸.

Em nosso estudo, a análise dos resultados da prevalência do Hp em biópsias gástricas foi positiva para presença de infecção, em 39% das amostras que apresentaram lesões inflamatórias (Figura 3).

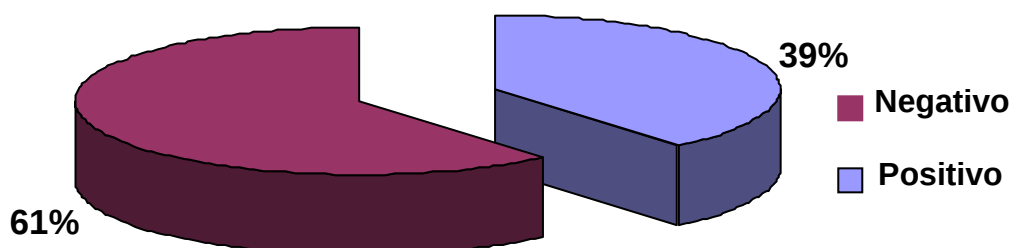


Figura 3. Prevalência do *H. pylori* nas amostra de fragmentos de mucosa gástrica.

Este resultado assemelhase aquele encontrado por Agostino-júnior *cols*¹ que constatarem uma prevalência de 47% em grupo de indivíduos residentes no estado de São Paulo. Já Pereira *cols*³² examinaram 172 pacientes que em 84,8% das amostras com processo inflamatório possuíam diagnóstico positivo para o Hp.

Em estudo recente, Álvares *cols*² observaram uma incidência de 88,4% de infecção para o Hp em amostras de pacientes portadores de gastrite crônica ativa.

Aceita-se agora que a infecção do Hp é a causa principal da gastrite crônica e

que pode evoluir para atrofia e metaplasia da mucosa subjacente em que ambas circunstâncias podem estar associadas com um risco aumentado de carcinoma gástrico^{19 39}. E também posteriormente Correia *cols*⁹ confirmam que uma seqüência de infecção do Hp provoca tamanha alterações da mucosa gástrica favorecendo a gênese do carcinoma gástrico.

Após a constatação de que a erradicação do *H. pylori* acarreta a cicatrização da doença ulcerativa péptica, estabeleceu-se, em 1987, que todos os pacientes com doença ulcerativa péptica relacionada ao *H. pylori* deveriam receber tratamento específico para o agente. Atualmente, esse é o único consenso a que se chegou quanto ao tratamento da infecção pelo Hp³⁷.

Em 1994, Solari *cols*⁴⁰ observaram uma prevalência de 59,5% de positividade para Hp. Já no Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais e Maranhão foi observada uma prevalência maior que 80%^{4 26 30 41}.

Estudos de Rocha *cols*³³ relataram uma prevalência de 90% em Minas Gerais num total de 132 pacientes. Outro grupo de pesquisadores, investigando a prevalência da bactéria na população rural de Nossa Senhora do Livramento (Mato Grosso) detectou uma presença do Hp em 77,5% em crianças e 84,7% nos adultos³⁷.

Desta forma, comparando-se a média dos estudos de prevalência já realizados e os resultados de nosso trabalho podemos constatar que a prevalência em Pernambuco é relativamente menor que as demais localidades já investigadas.

Em relação aos sítios anatômicos de infecção em nosso estudo, todas as amostras eram provenientes da região antral do estômago (Figura 4), outros autores observaram uma maior predominância desta região em relação ao corpo gástrico e a região fúndica²⁰. O que se justifica pelas observações de Agostino-júnior *cols*¹ que confirmaram somente a biópsia do antro gástrico é suficiente para identificação do Hp.

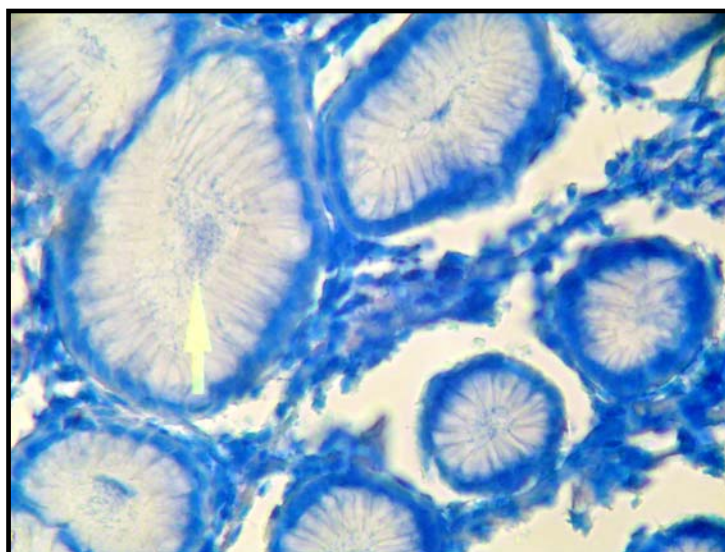


Figura 4. Micrografia histológica da região antral do estômago.

Na maioria dos indivíduos infectados pelo *H. pylori*, a inflamação é confinada à mucosa do antro gástrico. Por outro lado, em alguns indivíduos, a inflamação pode comprometer o corpo gástrico, levando à pangastrite, que pode evoluir para vários graus de atrofia, com conseqüente redução da produção de ácido clorídrico. Estes eventos são presumivelmente precursores do câncer gástrico¹¹. Como somente uma minoria (< 1%) dos indivíduos infectados pelo *H. pylori* desenvolve câncer gástrico, suspeita-se que fatores como a expressão de produtos bacterianos específicos, levando a diversos graus de resposta inflamatória, com diferentes freqüências de danos no DNA, possam estar relacionados à carcinogênese gástrica²⁵.

Segundo Blaser⁶ e Dunn cols¹⁰ o *Helicobacter pylori* é o principal agente causal de gastrite crônica (GC) e a infecção desempenha um papel na patogênese da úlcera péptica e do carcinoma gástrico. Pacientes com gastrite crônica atrófica multifocal são mais propensos a desenvolver carcinoma gástrico¹³, enquanto que, outros problemas gastrointestinal muito freqüente a úlcera duodenal está comumente associada à gastrite não-atrófica predominantemente antral¹⁰. Diferentes padrões de gastrite associada a *H. pylori* podem ser determinados por fatores de virulência da bactéria, em associação com fatores ambientais e específicos do próprio hospedeiro^{14 27}.

Quando se correlacionou as principais lesões gástricas encontradas neste trabalho pode-se constatar uma maior incidência (55,2%) de gastrite crônica ativa quando comparada com as demais lesões gástricas diagnosticadas (Tabela 1).

Correlacionando as amostras gástricas com a positividade para Hp, foi observada uma maior prevalência de gastrite crônica (92,5%) nas amostras positivas para Hp. Por outro lado, das amostras Hp(-) 39 indivíduos não tinham alterações inflamatórias. Já os positivos para Hp todos possuíam algum tipo de alteração inflamatória (tabela 1).

Sipponen *cols*³⁸ analisaram 54 pacientes onde destes 70% eram Hp(+) e possuíam alguns tipos de alteração inflamatória tais como gastrites ativas e pangastrites. E segundo nosso estudo, a análise qualitativa das amostras Hp(+), 45 possuíam moderada atividade, 38 com leve atividade e apenas 03 amostras gastrite crônica ativa possuía intensa atividade.

Tabela 1. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo laudos histopatológico e positividade para *H. pylori*.

Laudo histopatológico	<i>H. pylori</i>					
	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Gastrite crônica ativa	86	92,5	46	31,5	132	55,2
Gastrite crônica Inativa	04	4,3	47	32,2	51	21,3
Úlcera gástrica	03	3,2	11	7,5	14	5,9
Pangastrite crônica	00	00	03	2,1	03	1,3
Sem alterações	00	00	39	26,7	39	16,3
<i>Total</i>	93	100	146	100	239	100

3.2 Verificação da associação entre as variáveis independentes e positividade para *H. pylori*

Em relação ao sexo, a frequência da positividade do *H. pylori* foi maior (60,2%) nas mulheres quando comparada com os homens (39,8%) (Tabela 2). Estudos recentes de Lyra *cols*²³ observaram uma maior frequência (71,4%) do Hp em pacientes de sexo masculino, porém também não foi demonstrada significância estatística para este dado.

Tabela 2. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo o sexo e positividade para *H. pylori*.

Sexo	H. pylori					
	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Masculino	37	39,8	58	39,7	95	39,7
Feminino	56	60,2	88	60,3	144	60,3
Total	93	100	146	100	239	100

Quanto à faixa etária, observa-se que o número médio de casos com positividade para *H. pylori* foi semelhante ao das amostras com Hp negativo. No que se refere à faixa etária observa-se uma predominância de pacientes entre 31 e 45 anos (31,8%) em comparação aos demais grupos etários, outros estudos já correlacionavam as implicações ocupacionais da infecção pelo Hp com problemas de afastamento deste paciente do trabalho e problemas psicológicos decorrente⁷.

Enquanto isso, nas amostras positivas para Hp, foi observada uma maior incidência do bacilo entre os pacientes com idade média de 38 anos (Tabela 3). Este resultado também foi observado por Kumagai *cols*²⁰ onde foi constatado que o aumento da prevalência do Hp está diretamente relacionado com avanço da idade. Já o estudo de Pereira *cols*³² encontrou uma média de 46 anos nos pacientes avaliados.

Logan *cols*²² observaram que em países em desenvolvimento, como o Brasil, o *H. pylori* é adquirido quase sempre na infância (geralmente antes dos 10 anos de idade).

Tabela 3. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo a faixa etária e positividade para *H. pylori*.

<i>H. pylori</i>						
Faixa etária (em anos)	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
15-30	20	21,5	25	17,1	45	18,8
31-45	34	36,6	42	28,8	76	31,8
46-60	24	25,8	43	29,4	67	28,1
60 >	15	16,1	36	24,7	51	21,3
Total	93	100	146	100	239	100

Relacionando os laudos histopatológicos com a análise qualitativa (raro, moderado e numerosos) foi possível observar uma grande prevalência (90,2%) de gastrite crônica ativa em todos os grupos da análise qualitativa (tabela 4).

Tabela 4. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo laudos histopatológico e análise qualitativa para *H. pylori*.

	Análise qualitativa						Total	
	Raro		Moderado		Numerosos			
Laudo histopatológico	n	%	n	%	n	%	n	%
Gastrite crônica ativa	20	87	06	85,7	38	92,7	64	90,2
Gastrite crônica Inativa	02	8,7	00	00	02	4,9	04	5,6
Úlcera gástrica	01	4,3	01	14,3	01	2,4	03	4,2
<i>Total</i>	23	100	07	100	41	100	71	100

A partir da análise do número de casos e sua distribuição pelos grupos etários pode-se constatar uma incidência expressiva de contaminação por Hp associada ao quadro de Gastrite crônica ativa (Figura 5). E de acordo com a literatura a intensidade da infecção pelo Hp tem sido apontada como um dos agentes que explicam a evolução dos quadros, de gastrite crônica ativa para o câncer gástrico¹⁷.

Segundo Parsonnet *cols*³¹ a infecção do Hp, tem sido associada com a carcinogênese gástrica, e também associado com o gastrites atróficas. Estas

similaridades confirmam a importância clínica do estudo da prevalência de Hp em tecidos gástricos.

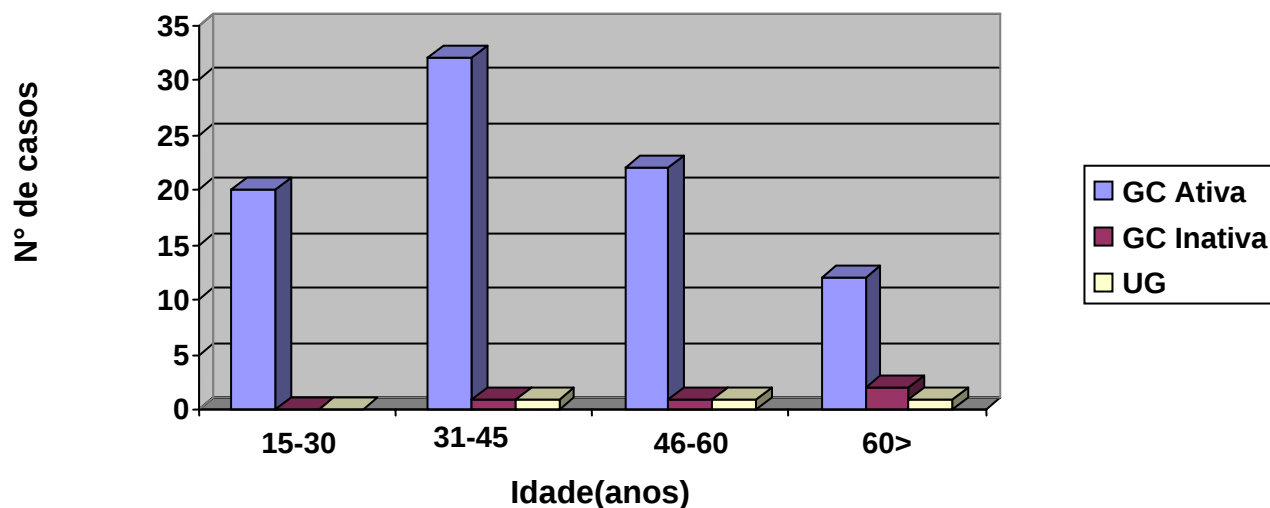


Figura 5. Distribuição das amostras de fragmentos de mucosa gástrica, segundo laudos histopatológico e faixa etária com positividade para *H. pylori*.

Comparando-se o diagnóstico qualitativo (fator humano= patologistas) com a análise morfométrica (Parâmetro em pixels = Análise de imagens) em relação a densidade de Hp nas amostras estudadas (nº de bacilos/área), pode-se observar uma semelhança no que se refere ao escore semi-quantitativo (Numerosos, Moderado ou escasso) e os resultados obtidos pelo sistema óptico computadorizado.

Analisando a densidade do *H. pylori* e relacionando com o diagnóstico dado por patologistas, pode-se observar uma relação significativa ($p < 0,001$) quando comparado os grupos numerosos com os grupos moderado e escasso. Porém, quando comparado o grupo moderado com o grupo escasso observou-se uma relação não significativa ($p > 0,05$). Podendo assim observar uma análise destes dois conceitos pelo parâmetro humano (Figura 6).

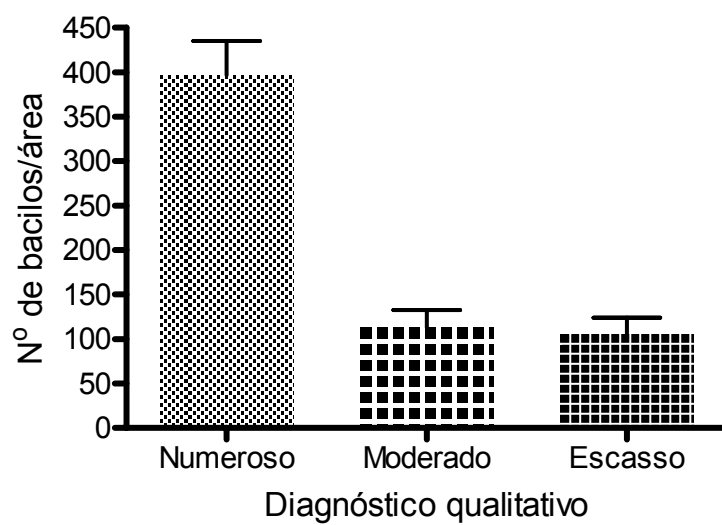


Figura 6. Número médio de bacilos *H. pylori* em relação ao diagnóstico qualitativo de biópsias gástrica.

4. Conclusões

4.1. Pode-se constatar uma prevalência de 39% de lesões inflamatórias gástricas associadas à infecção por Hp com maior ocorrência (60,3%) no gênero feminino e com faixa etária entre 31-45 anos.

4.2. Quanto às lesões gástricas mais freqüentes observou-se que a gastrite crônica ativa foi a mais evidente em cerca de 90,2% dos casos estudados.

4.3. Houve uma correlação positiva entre o diagnóstico qualitativo (análise semi-quantitativa) e a análise morfométrica (número médio de bacilos Hp), principalmente entre o diagnóstico de “numerosos” bacilos quando comparados aos casos de “moderados” e “raros” bacilos.

4.4. A partir destes dados pode-se concluir que estudos referentes aos aspectos da infecção da mucosa gástrica pelo Hp, e mais especificamente, os níveis de infecção quanto ao número de bacilos e extensão das áreas afetadas, são de suma importância para que se possa cada vez mais conhecer a evolução das lesões gástricas resultantes deste quadro infeccioso e em que situações e grupos humanos podem representar fatores de risco para o desenvolvimento de lesões mais graves como o câncer.

5. Referências

1. Agostino-júniro, F. Soroprevalência e fatores de risco para infecção pelo *Helicobacter pylori*. *Jornal de Pediatria* - Vol. 79, Nº1, 2003.
2. Álvares, M.M.D; Marino, M; Oliveira, C.A; Mendes, C.C; Costa, A.C.F; Guerra, J; Queiroz, D.M.M; Nogueira, A.M.M.F. *Helicobacter pylori associated gastritis: topographical pattern, associated diseases and correlation with cagA status*. *J Bras Patol Med Lab*. v 42, n 1, p. 51-59, fevereiro 2006.
3. Barthelson, R., Hopkins, C., Mobasser, A., 1999. Quantitation of bacterial adherence by image analysis. *J. Microbiol. Methods* 38,17-23.
4. Bezerra J.M; Vale AV; Lobato Filho JC; Martins SF; Albarelli AL; Freire Sde J; de Oliveira EG; Longo JC. Infecção gástrica por *Helicobacter pylori* em pacientes sintomáticos da ilha de São Luís, MA: correlação endoscópica, anatomopatológica e microbiológica. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 29(3): 245-50, 1996.
5. Bittencourt, P. F; Rocha, G. A; Penna, F. J; Queiroz, D. M. Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82:325-34.
6. Blaser, M.J. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res*, v. 55, p. 2111-5, 1995
7. Bosch, J. A; De-Geus, E. J. C; Ligtenberg, T. J. M; Nazmi, K; Veerman, E. C. I; Hoogstraten, J; Amerongen, A. V. N. Salivary Muc5b-Mediated Adherence (Ex Vivo) Of *Helicobacter Pylori* During Acute Stress. *Psychosom Med* 2000; 62(1):40-49

8. Bromberg, S. H; Takei, K; Garcia, S. A. L; Vitor, A. C; Zanoto, A; Baracat, F. F. Infecção pelo *Helicobacter pylori* e sua correlação com os sintomas dispépticos e evolução da gravidez. *Rev Assoc Med Bras* 2006; 52(5): 318-22
9. Correa, P.; Fox, J.; Fontham, E.; Ruiz, B.; Lin, Y.; Zavala, D.; Taylor, N.; Mackinley, D.; Lima, E.; Portilla, H. & Zarama, G., 1990. *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma. *Cancer*, 66:2569-2574.
10. Dunn, B.E.; Cohen, H.; Blaser, M.J. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Ver*, v.10, p. 720-41, 1997.
11. El-Omar, E. M; Oien, K; Murray L. S; El-Nujumi, A; Wirz, A; Gillen, D; Williams, C; Fullarton, G; Mccoll, K. E. L. Increased prevalence of precus changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H. pylori*. *Gastroenterology*, 118: 22-30, 2000.
12. Faria, J. L; Vassallo, J; Vianna. M. R. Patologia especial com aplicações clínicas. Ed. Guanabara Koogan S.A. 2ª edição, Rio de Janeiro, 1999.
13. Farinati, F. *et al.* *Helicobacter pylori* CagA status, mucosal oxidative damage and gastritis phenotype: a potential pathway to cancer? *Helicobacter*, v. 8, p. 223-27, 2003.
14. Figueiredo, C. *et al.* *Helicobacter pylori* and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, v. 94, p. 1680-7, 2002.
15. Fox, J.G. & Wang T.C. *Helicobacter pylori* infection: pathogenesis. *Curr. Opin. Gastroenterol*, 18: 15-25, 2002.
16. French RW Jr, Clemens J. *Helicobacter* in the developing world. *Microbes Infect* 2003; 5: 705–13.

17. Gerrits, M.M; Vliet, A.H.M; Kuipers, E.J; Kusters, J.G. *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 699–709. *infection the lancet* Vol 6, 2006.
18. Hussell T., Isaacson PG, Crabtree JE, *et al.* The response of cells from low-grade B-cell gastric lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993;342:571–574.
19. Kekki M, Siurala M, Varis K, Sipponen P, Sistonen P, Nevanlinna HR. Classification principles and genetics of chronic gastritis. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1987;141:1–28
20. Kumagai, T; Malaty, H. M; Graham, D.Y; Hosogaya, S; Misawa, K. F; Ota, H; Sei, C; Tanaka, E; Akamatsu, T; Shimizu, T; Kiyosawa, K; Katsuyama, T. Acquisition versus Loss of *Helicobacter pylori* Infection in Japan: Results from an 8-Year Birth Cohort Study. *The Journal of Infectious Diseases.* 1998; 178:717–21.
21. Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointestinal Endoscopy* 45: 463-467, 1997.
22. Logan, R.P.H. & Walker, M.M. ABC of the upper gastrointestinal tract: epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Brit. Med. J.*, 323: 920-3, 2001.
23. Lyra, A.C., Santana, G. Santana, N. Silvany-Neto, A., Pereira, E.M., Mascarenhas, R., Lyra, M.C., Veiga, A., Ferreira, K., Zaterka,S., Lyra,L.G. Seroprevalence and Risk Factors associated with *Helicobacter pylori* Infection in Blood Donors in Salvador, Northeast-Brazil. *The brazilian journal of Infectious Diseases.* 7(5): 339-345. 2003

24. Martinez, M; Kordisch, F; Lesser, S. The prevalence of *Helicobacter pylori*: Are Emergency Medicine residents at risk? *Journal of Emergency Medicine*, Volume 19, Issue 3, October 2000, Pages 213-215.

25. McColl, K.E, El- Omar, How does *H. pylori* infection cause gastric cancer? *Keio J. Med.* 2002; 5(supl 2): 53-6.

26. Mello, E.S. & Melo, C.R. Prevalência dos diferentes tipos de gastrite em pacientes com queixas digestivas altas. *Arq. Gastroenterol.*, 29(2): 43-50, 1991.

27. Nogueira, C. *et al.* *Helicobacter* genotypes may determined gastric histopathology. *Am J Pathol*, v. 158, p. 647-54, 2001.

28. O'Mahony, D. *Electronic Payment Systems for E-Commerce*. Ed Artech House. 2005.

29. Ogata, S. K; Kawakami. E; Patrício, F. R. S; Pedroso, M. Z; Santo, A. M. Evaluation of invasive and non-invasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic children and adolescents. *Sao Paulo Med J/Rev Paul Med* 2001; 119(2):67-71.

30. Oliveira, A.M.R; Rocha, G. A; Queiroz, D. M. M; Barbosa, M. T; Silva, S. C. Prevalence of *H. pylori* infection in a population from the rural area of Araçuaí, MG, Brazil. *Rev. Microbiol.*, 30(1): 59-61, 1999.

31. Parsonnet J; Friedman, G. D; Vandersteen, D. P; Chang, Y; Vogelmann, J. H; Orentreich, N; Sibley, R. K. *Helicobacter Pylori* infection and the risk of gastric adenocarcinoma, *NEJM*, VOL.325;1127-1131,1991.

32. Pereira, L. P.L.B; Waisberg, J; André, E.A; Zanoto, A; Mendes- Jr, J. P; Soares, H. P. Detection Of *Helicobacter Pylori* In Gastric Cancer+. *Arq Gastroenterol* V. 38 - No. 4 - Out./Dez. 2001

33. Rocha, G.A., Rocha, A.M., Silva, L.D., Santos, A., Bocewicz, A.C., Queiroz Rd Rde, M., Bethony, J., Gazzinelli, A., Correa-Oliveira, R., Queiroz, D.M., 2003. Transmission of *Helicobacter pylori* infection in families of preschool-aged children from Minas Gerais, Brazil. *Trop. Med. Int. Health* 8, 987—991.
34. Rosandic , M; Pilas, V; Bevanda, M; Falisevac, V; Korac, B. Quantification of *Helicobacter pylori* resistance in functional and organic dyspepsia *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* (2002) 27, 353—355.
35. Rothenbacher, D; Brenner H. Burden of *Helicobacter pylori* and *H. pylori*-related diseases in developed countries: recent developments and future implications. *Microbes and Infection, Volume 5, Issue 8, July 2003, Pages 693-703*
36. Shen, H; Wang, X; Hu, Z; Zhang, Z; Xu, Y; Hu, X, Guo, J; Wei, Q. Polymorphisms of DNA repair gene *XRCC3* Thr241Met and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Cancer Letters*. 206 (2004) 51—58
37. Silva JP, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AMC, Bittencourt P, MMDA Cabral. *babA2* as a risk factor for duodenal ulcer. *Helicobacter*. 2004;9:549.
38. Sipponen, P; Kosunen, T. U; Valle, J; Riihelä, M; Seppälä, K. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis in gastric cancer. *J Clin Pathol*. 1992 April; 45(4): 319—323.
39. Siurala M, Sipponen P, Kekki M. Chronic gastritis: dynamic and clinical aspects. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1985;109:69—76.
40. Solari, C. A; Araruna, R. P; Reis, E. M; Hofer, E; Dias, G; Moraes, G; Basilio, C. A; Rodriguez, C. M; Luna, L. L. *Helicobacter pylori* in dyspeptic children and adults: endoscopic, bacteriologic and histologic correlations. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 89(4): 581-6, 1994.

41. Souto FJ; Fontes CJ; Rocha GA; de Oliveira AM; Mendes EN; Queiroz DM. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a rural area of the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 93(2): 171-4, 1998.
42. Spicer, S. S. Histochemistry in pathologic diagnosis. New York: Dekker, 1987. 1041p.
43. Van Bommel, J. H, Musen, M. A (1997) Biostatistical Methods. In Handbook of medical informatics. Springer-Verlag (Ed.), Germany, 387-96p.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Revisão da literatura)

Adrian, M; Cover, T. L; Dubochet J; Heuser, J. E (2002) Multiple Oligomeric States of the *Helicobacter pylori* Vacuolating Toxin Demonstrated by Cryoelectron Microscopy. *J. Mol. Biol.* 318, 121–133

Agostino-júnior, F (2003) Soroprevalência e fatores de risco para infecção pelo *Helicobacter pylori*. *Jornal de Pediatria* .v 79. nº1.

Albenque, M, Tall F, Dabis F, Mégraud F (1990) Epidemiological study of *Helicobacter pylori* transmission from mother to child in Africa. *Rev Esp Enferm Dig*;78:48.

Alley, MC (1991) Morphometric and colorimetric analysis of human tumor-cell line growth and drug sensitivity in soft agar culture. *Câncer Res.* 51(4): 1247-1256.

Aoki, K; Kihaile, P. E; Wenyuan, Z; Xianghang, Z; Castro, M; Disla, M; Nyambo, T. B; Misumi, J (2005) Comparison of Prevalence of Chronic Atrophic Gastritis in Japan, China, Tanzania, and the Dominican Republic. *Ann Epidemiol.* 15:598–606.

Argent, R. H; Kidd, M; Owen, R.J; Thomas, R.J; Limb, M. C; Atherton, J.C (2004) Determinants and consequences of different levels of CagA phosphorylation for clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 127: 514-523.

Arruda SMB, Jucá NT, Oliveira EP, Macedo FM, Albuquerque MC, Pereira MG (1997) Perfil do câncer gástrico no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. *GED Gastroenterol Endosc Dig*;16:14-8.

Ashour AA, Magalhães PP, Mendes EN, Collares GB, Gusmão VR, Queiroz DM (2002) Distribution of vacA genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 33:173-8.

Atherton JC, Cao P, Peek RM, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL (1995) Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem.* 270:1771-7.

Atherton, J.C (1997) The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori*. *Gut*, 40: 701-3.

Baik SC; Youn HS; Chung MH; Lee WK; Cho MJ; Ko GH; Park CK; Kasai H; Rhee KH (1996) Increased oxidative DNA damage in infected human gastric mucosa. *Cancer Res.*, 56: 1279-82.

Bamford KB, Bickley J, Collins JSA, Johnston BT, Potts S, Boston V (1993) *Helicobacter pylori*: comparison of DNA fingerprints provides evidence for intrafamilial infection. *Gut*. 34:1348-50.

Banatvala N, Mayo K, Megraud F, Jennings R, Deeks JJ, Feldman RA (1993) The cohort effect and *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis.* 168:219-21.

Barbosa-Júnior AA (2001) Morphological computer-assisted quantitative estimation of stained fibrous tissue in liver sections: applications in diagnosis and experimental research. *J. Bras. Patol.* 37(3): 197-200.

Bartels PH & Thompson D (1994) The video photometer. In: Image Analysis. A primer for pathologists. Marchevsky AM & Bartels PH (Ed.) Raven Press Ltd. New York. 29-56.

Bezerra J.M; Vale AV; Lobato Filho JC; Martins SF; Albarelli AL; Freire Sde J; de Oliveira EG; Longo JC (1996) Infecção gástrica por *Helicobacter pylori* em pacientes sintomáticos da ilha de São Luís, MA: correlação endoscópica, anatomopatológica e microbiológica. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 29(3): 245-50.

Bittencourt, PF; Rocha, GA; Penna, FJ; Queiroz, DM (2006) Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. *J Pediatr.* 82: 325-34.

Blaser, MJ. & Berg, DE (2001) *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. *J. Clin. Invest.* 107(7): 767-73.

Blaser, MJ; Parsonnet, J (1994) Parasitism by the “slow” bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *J Clin Invest* 94: 4-8.

Boag AH; Kennedy LA; Miller MJ (2001) Three-dimensional microscopic image reconstruction of prostatic adenocarcinoma. *Archives Pathology and Laboratory Medicine.* 125(4): 562-6.

Bourk B; Jones, N; Sherman, PM (1996) *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease in children. *Pediatr Infect Dis J.* 15:1-13.

Brenner H; Bode G; Boeing, H (2000) *Helicobacter pylori* infection among offspring of patients with stomach cancer. *Gastroenterology*, 118: 31-5.

Bujanover, Y; Reif S; Yahav J (1997) *Helicobacter pylori* e doença péptica no paciente pediátrico. *Clin. Ped. Am. Norte*, 7: 215-35.

Carvalho, AST; Queiroz, DMM; Mendes, EN; Rocha, GA; Penna, FJ. (1991) Diagnosis and distribution of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of symptomatic children. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 24: 163-6.

Coelho, LG; Mattos, AA; Francisconi, C.F.M; Castro, L.P; Suraia; B. (2004) Efficacy of the dosing regimen of pantoprazole 40 mg, amoxicillin 1000 mg and clarithromycin 500 mg, twice daily for 7 days, in the eradication of *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer. *Arquivo de gastroenterologia*;41(1):71-76.

Censini S, Lnage C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M (1996) Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci US*. 93:14648-53.

Clemens J, Alpert MJ, Rao M, Huda S, Qadr F, Van Loon FPL (1996) Sociodemographic, higienic and nutritional correlates of *Helicobacter pylori* infection of young Bangladeshi children. *Pediatr Infect Dis J*. 15:1113-8.

Coelho LG, Passos MC, Chausson Y (1992) Duodenal ulcer and eradication of *Helicobacter pylori* in a developing country: an 18-month follow-up study. *Scand J Gastroenterol*. 27:362-6.

Coelho, L. G. V; Passos, M. C. F; Chausson, Y; Castro, F. J; Vieira, W. L. S; Franco, J. M. M; Moretzsohn, L. D; Andrade, A. M; Guedes, L. M; Miranda, S. C; Maciel, C. D; Fernandes, M. L. M; Yazaki, F. R; Souza, E. M. M; Castro, L. P. (1995). Factors involved in reinfection by *H. pylori* in Brazil. *Gut*, 37:71.

Coelho, LGV; Das, SS; Karim, QN (1987) *Campylobacter pyloridis* in the upper gastrointestinal tract: a Brazilian study. *Arq. Gastroenterol.*, 24(1): 5-9.

Cohen, JD; Braver, T S; O'Reilly, RA (1996) computational approach to prefrontal cortex, cognitive control, and schizophrenia: recent developments and current challenges. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 351, 1515–1527.

Correa P (1992) Human Gastric Carcinogenesis: a multistep and multifatorial process. First American Cancer Society Award Lecture na Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res*.52:6735-40.

Costas, M; Owen, RJ; Bickley, J; Morgan, DR (1991) Molecular techniques for studying the epidemiology of infection by *Helicobacter pylori*. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 26:20-32.

Cover TL, Blanke SR (2005) *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol.* 3:320-2.

Custódio, RO; Daher, RR; Ximenes, Silvério,YRAO; Custódio, NRO (2005) *Helicobacter pylori* identification by brush gastric cytology: a comparison with histologic method. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38(4):322-325.

Cutler AF, Schubert TT (1993) Long-term *Helicobacter pylori* recurrence after successful eradication with triple therapy. *Am J Gastroenterol.* 88:1359-61.

Demartines N, Battegay E, Liebermann J, Oberholzer M, Rufli T, Harder F (2000) Telemedicine: Perspectives and multidisciplinary approach. *Schweiz. Med. Wochensh.* 130(9): 314-323.

Demirkaya O (1999) Automated identification of stained cells in tissue sections using digital image analysis. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 21(2): 93-102.

Desai HG, Gill HH, Shankaran K, Mehta PR, Prabhu SR (1991) Dental plaque: a permanent reservoir of *Helicobacter pylori*? *Scand J Gastroenterol.* 26:1205-8.

Drumm, B; Perez-Perez GI; Blaser MJ; Sherman PM (1990) Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *N. Engl. J. Med.*, 22: 359.

El-Omar, EM; Oien, K; Murray LS; El-Nujumi, A; Wirz, A; Gillen, D; Williams, C; Fullarton, G; Mccoll, KEL (2000) Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H. pylori*. *Gastroenterology*, 118: 22-30.

Eslick, G (2001) Sexual transmission of *Helicobacter pylori* via oral-anal intercourse. *Int. J. Std. Aids*, 13 (1): 7-11.

Eusebi V, Roshini L, Erde S, Rosai J (1997) Transcontinental consults in surgical pathology via the internet. *Hum. Pathol.* 28: 13-16.

Fantry GT, Zheng QX, James SP (1995) Conventional cleaning and disinfection techniques eliminate the risk of endoscopic transmission of *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol.* 90:227-32.

Faria, JL; Vassallo, J; Vianna, MR (1999) Patologia especial com aplicações clínicas. Ed. Guanabara Koogan S.A. 2ªed.

Ferrari-Jr AP; Geocze, S ; Trabulsi, LR (1989) *Campylobacter pylori* in dispeptic patients. *Rev. Hosp. S. Paulo/Esc. Paul. Méd.* 1(2): 65-8.

Figuerêdo-Silva J, Pontes-Filho NT, Montenegro LT, Santana JW, Freitas SB (1999) Esquistossomose mansônica experimental: Estudo morfométrico e experimental das células caliciformes intestinais. *An. Fac. Med. Univ. Fed. Pe.* 44: 21-25.

Fox JG (1995) Non-human reservoirs of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther*;9 Suppl 2:93-103.

Fox, JG & Wang TC (2002) *Helicobacter pylori* infection: pathogenesis. *Curr. Opin. Gastroenterol*, 18: 15-25.

Francis IM (2000) Manual versus image analysis estimation of PCNA in breast carcinoma. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 22(1): 11-16.

Furness P & Rashbass J (2000) The virtual double-headed microscope: telepathology for all ? *Histopathol.* 36(2): 182-183.

Gatti, LL; Souza, EKF; Leite, KR; Bastos, ELS; Vicentini, LR; Silva, LC; Smith, MAC; Payão, SLM. (2005) *cagA vacA* alleles and *babA2* genotypes of *Helicobacter pylori* associated with gastric disease in Brazilian adult patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, Volume 51, Issue 4, 231-235.

Genta, RM. & Graham, DY (1998) Depth of *Helicobacter pylori* in the oxyntic mucosa in patients treated with proton pump inhibitors. *Human Pathology*, V. 29, Issue 8: 846-850.

Georgopoulos SD, Mentis AF, Spiliadis CA (1996) *Helicobacter pylori* infection in spouses of patients with duodenal ulcer and comparison of ribosomal RNA gene patterns. 39:634-8.

Ghoneim TA, Crabtree JE, Ghoneim AT (1996) Molecular fingerprinting of pre and post treatment isolates of *H. pylori* using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. 39 Suppl 2:A81.

Glupczynski, Y (1996) Culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and antimicrobial susceptibility testing. In: Lee, A. (Ed.), *H. pylori: Techniques for Clinical Diagnosis*. W.B. Saunders Company Ltd, London, pp. 17–32.

Go, M.F (2002) Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 16 (suppl. 1): 3-15.

Goodman JK, Correa P, Aux HJT, Ramírez H, DeLany JP, Pepinosa OG (1996) *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol*;144:290-9.

Goodman, K. J. & Correa, P (1995) The transmission of *Helicobacter pylori*. A critical review of the evidence. *International Journal of Epidemiology*, 24:875-887.

Goodwin, CS (1989) *Campylobacter pylori* become *Helicobacter pylori*. *Int. J. Bacteriol.*, 39: 353-405.

Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ Jr, Klein PD, Adam E (1991) Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States: effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 100:1495-501.

Gusm. VR, Mendes EN, Queiroz DM, Rocha GA, Rocha AM, Ashour AA (2000) *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from children with and without duodenal ulcer in Brazil. *J Clin Microbiol.* 38:2853-7.

Gutierrez, OMD; Akamatsu, TMD; Cardona, HMD; Graham, DY; Hala, MT; El-Zimaity, MD (2003) *Helicobacter pylori* and Heterotopic Gastric Mucosa in the Upper Esophagus (the Inlet Patch). *The Am. J. of gastroenterology* . v. 98, n. 6.

Hamilton PW & Allen DC (1995) Morphometry in Histopathology. *J. Pathol.* 175: 369-379.

Hamilton PW (1997) Interactive computer-aided morphometry. In: Quantitative Clinical Pathology. Peter W. Hamilton & Derek C. Allen (Ed.), Blackwell-Science, USA, 342.

Hanahan, D & Weinberg, RA (2000) The Hallmarks of Cancer *Cell, Volume 100, Issue 1, 7 Pages 57-70*.

Handt LK, Fox JG, Dewhirst FE, Fraser GJ, Paster BJ, Yan LL (1994) *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. *Infect Immunol.* 62:2367-74.

Hazell, SL.; Evans, DJ; Graham, DY (1991) *Helicobacter pylori*. *J. Gen. Microbiol.*, 137: 57-61.

Helin HO, Lundin ME, Laakso M, Lundin J, Helin HJ, Isola J (2006) Virtual Microscopy in Prostate Histopathology: Simultaneous Viewing of Biopsies Stained Sequentially With Hematoxylin and Eosin, and Methylacyl-Coenzyme A Racemase/p63 Immunohistochemistry. *The Journal Of Urology*. 175:495-499.

Hopkins RJ, Vial PA, Ferreccio C, Ovalle J, Prado P, Sotomayor V (1993) Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: vegetables may serve as one route of transmission. *J Infect Dis*;168:222-6.

Hunt RH, Malfertheiner P, Yeomans ND (1995) Critical issues in the pathophysiology and management of peptic ulcer disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 7: 685-99.

IARC- Agência Internacional para Pesquisa de Câncer. Disponível em: <http://www.iarc.fr/>. Acesso em 20 mai. 2007.

Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET (1998) *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood antigens revealed by retagging. *Science*.;279:373-7.

INCA- Instituto Nacional do Câncer. http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=329 Acesso em 15, jan, 2007.

Jenks, PJ. & Kusters, JG (2000) Pathogenesis and virulence of *Helicobacter pylori*. *Curr. Opin. Gastroenterol*. 16(suppl. 1): S11-8.

Kapadia, CR (1997) Host factors in *Helicobacter* infection. *Gastroenterology*, 113 (1): 361-2.

Katoh M, Saito D, Noda T (1993) *Helicobacter pylori* may be transmitted through gastrofiberscope even after manual histamine washing. *Jpn J Cancer Res*;84:117-9.

Kawakami, E; Machado, RS; Fonseca, JA; Patrício, FRS (2004) Aspectos clínicos e histológicos da úlcera duodenal em crianças e adolescentes. *Jornal de Pediatria* - 80(4) 321-325.

Kelly, SM; Pitcher, MCL; Farmery, SM (1994) Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. *Gastroenterology*, 107(6): 1671-4.

Klein, PD; Graham, DY; Gaillour, GL (1991) Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Lancet*, 337(8756): 1503-6.

Kodaira, MS; Escobar, AMU; Grisi, S (2002) Epidemiological aspects of *Helicobacter pylori* infection in childhood and adolescence. *Rev. Saúde Pública*. 36 (3).

Korwin, JD. (2006) La gastrite à *Helicobacter pylori*, une pathologie frontière *Helicobacter pylori* gastritis: a connective disease. *La Revue de médecine interne*. 27: S61–S63.

Krajden S; Fuksa M; Anderson J; Kempson J; Boccia A; Petrea C (1989) Examination of human stomach biopsies, saliva, and dental plaque for *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol*;27(6):1397-8.

La Vecchia, C; Lucchini, F; Negri, E; Boyle, P; Maisonneuve, P; Levi, F (1992) Trends of cancer mortality in europe, 1955–1989: I, digestive sites. *European Journal of Cancer*, 28(1) 132-235.

Ladeira, MSP; Rodrigues, MAM; Freire-Maia, DV; Salvadori, DM F (2005) Use of Comet assay to assess DNA damage in patients infected by *Helicobacter pylori* Comparisons between visual and image analyses. *Mutation Research* 586 76–86.

Ladeira, MSP; Salvadori, DMF; Rodrigues, MAM (2003) *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 39(4) 335-342.

Ladeira, MSP (1997) *Estudos, pelo Ensaio Cometa, dos danos no DNA de células da mucosa gástrica de portadores de gastrite crônica, infectados ou não pelo Helicobacter pylori*. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Botucatu.

Lambert I, Clyne M, Drumm B. (1993) *H. pylori* in dental plaques [Letter]. *Lancet*;341:957.

Lambert WC, Lapidus A, Rao BK (2001) Melanoma diagnosis by computerized analysis of clinical images. *Arch. Dermatol*. 137(3): 377.

Langenberg, W.; Rauws, EAJ; Oudbrier, JK (1990) Patient to patient transmission of *Campylobacter pylori* infection by fiberoptic gastroduodenoscopy and biopsy. *J. Infect. Dis.*, 161: 507.

Latham VH, Oppennheimer SB (1999) A simple image analysis method for evaluating cell bindind to derivatized beads. *Acta Histochem*. 101(3): 263-270.

Lee, JS; Jung, JJ; Kim, J (2000) Quantification of angiogenesis by a computarized image analysis system in renal cell carcinoma. *Anal, Quant. Cytol. Histol*. 22(6): 469-474.

León-Barúa, R; Arce, SR; Chinga-Alayo, E; Rodríguez-Ulloa, C; Taylor, DN; Gotuzzo, E; Kosek, M; Eza, D; Gilman, RH (2006) *Helicobacter pylori*-associated chronic atrophic gastritis involving the gastric body and severe disease by *Vibrio cholerae*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 100, 567—572.

Leverstein-Van Hall M, Van der Ender A, Van der Wit M, Tytgat GN, Dankert J (1993) Transmission of *Helicobacter pylori* via faeces [Letter]. *Lancet*;342:1419-20.

Logan, RPH & Walker, MM (2001) ABC of the upper gastrointestinal tract: epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Brit. Med. J.*, 323: 920-3.

Magalhães AF; Almeida JR; Guerrazzi F; Yamanaka A; Mesquita MA; Trevisan MA; Ulson CM (1991) Gastrite crônica associada ao *Helicobacter pylori* em pacientes com dispepsia não-ulcerosa e com úlcera duodenal. *Rev. Paul. Med.*, 109(5): 197-203.

Maia LC, Figuerêdo-Silva J, Silva ECC, Souza BR, Cavalcanti CLB (1999) Estudo morfométrico da rede arteriolar miocárdica em indivíduos alcoolistas crônicos. *An. Fac. Med. Univ. Fed. Pe.* 44: 31-33.

Malaty, HM. (1991) Transmission of *Helicobacter pylori* infection. Studies in families of healthy individuals. *Scand. J. Gastroenterol.*, 26(9): 927-32.

Malaty, HM; Kumagai, T; Tanaka, E; Ota, H; Kiyosawa, K; Graham, D.Y; Katsuyama, T (2000) Evidence from a nine-year birth cohort study in Japan of transmission pathways of *Helicobacter pylori* infection. *J. Clin. Microbiol.* 38, 1971-1973.

McColl, KE, El- Omar, (2002) How does *H. pylori* infection cause gastric cancer? *Keio J. Med.*; 5(suppl 2): 53-6.

Mello, ES. & Melo, CR (1991) Prevalência dos diferentes tipos de gastrite em pacientes com queixas digestivas altas. *Arq. Gastroenterol.*, 29(2): 43-50.

Melo-Júnior MR. (2003) Histoquímica e análise digital de imagens em neoplasias cutâneas. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 56p. (Tese Mestrado).

Mendall MA, Northfield TC (1995) Transmission of *Helicobacter pylori* infection. *Gut*;37:1-3.

Misiewicz JJ. (1995) Current insights in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Eur J. Gastroenterol Hepatol. 7: 701-3.

Mitchell HM, Li YY, Hu PJ, Liu Q, Chen M, Du GG (1992) Epidemiology of *Helicobacter pylori* in southern China: identification of early childhood as the critical period for acquisition. J Infect Dis;166:149-53.

Montecucco C, de Bernard M. (2003) Immunosuppressive and proinflammatory activities of the VacA toxin of *Helicobacter pylori*. J Exp Med; 198:1767-71.

Montironi R. A; Longatto Filho, A; Santinelli, R; Mazzucchelli, R; Pomante; M. Scarpelli. (2000) Nuclear changes in the normal-looking columnar epithelium adjacent to and distant from prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer. Morphometric analysis in whole-mount sections. *Virchows Archives*. 437(6): 625-34.

Moraes, MMC & Silva, GAP. (2003.) *Risk factors for Helicobacter pylori infection in children*. J. Pediatr (Rio J) vol.79 (1).

Morris A, Niccholson G, Lloyd G, Haines D, Rogers A, Taylor D (1986) Seroepidemiology of *Campylobacter pyloridis*. N Z Med J;99:657-9.

MS-Brasil,(2007) Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=186. Acesso em 25 mai. 2007.

Novik VI (2000) The use of computer technology in the cytologic diagnosis of neoplasms. *Vopr. Onkol*. 46(2): 239-42.

Nwokolo CU, Bickley J, Attard AR. (1992) Evidence of clonal variants of *Helicobacter pylori* in three generations of a duodenal ulcer disease family. *Gut*;33:1323-7.

O'Mahony, R; Basset, C; Holton, J; Vaira, D; Roitt, I (2005) Comparison of image analysis software packages in the assessment of adhesion of microorganisms to mucosal epithelium using confocal laser scanning microscopy. *Journal of Microbiological Methods* 61 105– 126.

Oberholzer, M; Östreicher, M; Christen H; Brühlmann, M (1996) Methods in quantitative image analysis. *Histochem. Cell. Biol.* 105: 333-355.

Ogata, SK; Kawakami. E; Patrício, FRS; Pedroso, MZ; Santo, AM (2001) Evaluation of invasive and non-invasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic children and adolescents. *Sao Paulo Med J/Rev Paul Med*; 119(2):67-71.

Ogura K, Maeda S, Nakao M, Watanabe T, Tada M, Kyutoku T, Yoshida H, Shiratori Y, Omata M (2000) Virulence factors of *Helicobacter pylori* responsible for gastric diseases in Mongolian gerbil. *J Exp Med*;192:1601-1610.

Olfat FO, Zheng Q, Oleastro M, Volland P, Boren T, Karttunen R (2005). Correlation of the *Helicobacter pylori* adherence factor BabA with duodenal ulcer disease in four European countries. *FEMS Immunol Med Microbiol.*;44:151-6.

Oliveira, AMR; Rocha, GA; Queiroz, DMM; Barbosa, MT; Silva, SC (1999) Prevalence of *H. pylori* infection in a population from the rural area of Araçuaí, MG, Brazil. *Rev. Microbiol.*, 30(1): 59-61.

Oliveira AG, Santos A, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AM, Oliveira CA (2003) babA2 and cagA-positive *Helicobacter pylori* strains are associated with duodenal ulcer and gastric carcinoma in Brazil. *J Clin Microbiol.*;41:3964-6.

Opekun, A.R; Luu, P; Gotschall, A. B; Abdalla, N; Torres, E; Rudd, S.B; Graham, D. Y; Nurgalieva, Z.Z; Tsuchiya, K(2006) Point-of-care *Helicobacter pylori* urine antibody detection in a multi-ethnic adult population in the United States. *Translational Research*. 148 (1) 13-18

Parsonnet J; Friedman, GD; Vandersteen, DP; Chang, Y; Vogelman, JH; Orentreich, N; Sibley, RK (1991) *Helicobacter Pylori* infection and the risk of gastric adenocarcinoma, *NEJM*, VOL.325;1127-1131.

Parsonnet, Julie (1996) *H pylori* in the stomach - A paradox unmasked. *The N E J of Med*. 335(4).

Peek, RM.; Moss, SF; Tham, KT (1997) *cagA*+ strains and dissociation of gastric epithelial proliferation from apoptosis. *J. Natl. Cancer Inst.*, 89: 863-8.

Pereira, LPLB; Waisberg, J; André, EA; Zanoto, A; Mendes- Jr, JP; Soares, HP (2001) Detection Of *Helicobacter Pylori* In Gastric Cancer+. *Arq Gastroenterol*. 38 (4).

Perez-Perez GI, Taylor DN, Bodhidatta L, Wongsrichanalai J, Base WB, Dunn BE (1990) Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in Thailand. *J Infect Dis*;161:1237-41.

Petersen I, Wolf G, Roth K, Schlüns K (2000) Telepathology by the internet. *J. Pathol*. 191(1): 8-14.

Podzorski, RP; Podzorski, DS; Wuerth, A; Tolia, V(2003) Analysis of the *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, and *babA2* genes in *Helicobacter pylori* from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*,46 (2) 83-88.

Pons, M.N; Vivier, H; (2000). Biomass quantification by image analysis. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 66, 133– 184.

Queiroz DM, Mendes EN, Carvalho AS, Rocha GA, Oliveira AMR, Soares AST. (2000) Factors associated with *Helicobacter pylori* by a *cagA*-positive strain in children. J infect Dis. 181:626-30.

Queiroz DMM, Bittencourt P, Guerra JB, Rocha AMC, Rocha GA, Carvalho AST. (2005) IL1RN polymorphism and *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains increase the risk of duodenal ulcer in children. Pediatr Res.;58:892-6.

Rad, R; Gerhard, M; Lang, R; Schöniger, M; Rösch, T; Schepp, W; Becker, I; Wagner, H; Prinz, C (2002) The *Helicobacter pylori* Blood Group Antigen-Binding Adhesin Facilitates Bacterial Colonization and Augments a Nonspecific Immune Response. The Journal of Immunology. 168: 3033-3041.

Rashbass J (2000) The impact of information technology on histopathology. *Histopathology*. 36(1): 1-7.

Rebora A, Drago F, Parodi A. (1995) May *Helicobacter pylori* be important for dermatologist? *Dermatology*;191:6-8.

Reinauer S, Megahed M, Goerz G. (1995) Schönlein-Henoch purpura associated with gastric *Helicobacter pylori* infection. *J Am Acad Dermatol* 1;33:876-9.

Reinhard, J; Basset, C; Holton, J; Binks, M; Youinou, P; Vaira, D (2000). Image analysis method to assess adhesion of *Helicobacter pylori* to gastric epithelium using Confocal laser scanning microscopy. J. Microbiol. Methods 39, 179–187.

Resende, ALS; Mattos, IE; Koifman, S. (2006) Dieta e câncer gástrico: aspectos históricos associados ao padrão de consumo alimentar no estado do Pará. Rev. Nutr.19 (4).

Rocha, GA; Rocha, AM; Silva, LD; Santos, A; Bocewicz, A.C; Queiroz Rd Rde, M; Bethony, J; Gazzinelli, A; Correa-Oliveira, R; Queiroz, DM (2003) Transmission of *Helicobacter pylori* infection in families of preschool-aged children from Minas Gerais, Brazil. *Trop. Med. Int. Health* 8, 987-991.

Rodrigues, LGM; Nogueira, AMMF; Araújo, LA; Salles, PGO; Carvalho, S. P; Cabral, MMDA (2001) Metaplasia intestinal e carcinoma gástrico: correlação com os subtipos histológicos da neoplasia. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, , 37(4):279-286.

Roels SLMF (2000) DNA ploidy and nuclear morphometric variables for the evaluation of melanocytic tumors in dogs and cats. *Am. J. Vet. Res.* 61(9): 1074-1079.

Roma E, Kafritsa Y, Panayiotou J, Liakou R, Constantopoulos A (2001) Is peptic ulcer a common cause of upper gastrointestinal symptoms? *Eur J Pediatr.*;160:497-500.

Romaniuk, PJ; Zoltowska, B; Trust, TJ; Lane, DJ; Olsen, GJ; Pace, NR; Stahl, DA (1987) *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. *J. Bacteriol.*, 169(5): 2137-41.

Roosendaal R, Kuipers EJ, Van Den Brule AJC. (1994) Importance of the fiberoptic endoscope cleaning procedure for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens by PCR. *J Clin Microbiol*;32:1123-6.

Rosandic , M; Pilas, V; Bevanda, M; Falisevac, V; Korac, B (2002) Quantification of *Helicobacter pylori* resistance in functional and organic dyspepsia *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 27, 353–355.

Rothenbacher, D; Bode, G; Berg, G; Gommel, R; Gonser, T; Adler, G; Brenner H (1998) Prevalence and determinants of *Helicobacter pylori* infection in preschool children: a population-based study from Germany. *Int J Epidemiol*;27:135-41.

Rubegni P, Cevenini G; Burroni M (2001) Digital dermoscopy analysis of pigmented skin lesions: An important auxiliary for clinical decision and not for automatic diagnosis. *Arch. Dermatol.* 137(3): 378.

Sack RB, Gyr K (1993) *Helicobacter pylori* infection in developing word. *Lancet*;341:1275.

Sakagami, T; Dixon, M; O'Rourke, J; Howlett, R; Alderuccio, F; Vella, J (1996) Host factors in *Helicobacter* infection. *Gut*, 39: 639-48.

Sasaki K, Yoshito T, Sata M, Fuji Y, Matsubara F, Zhao M (1999) *Helicobacter pylori* in the natural environment. *Scand J Infect Dis*;31:275-9.

Satoh, KMD; Kimura, KMD; Taniguchi, YMD; Kihira, KMD; Takimoto, TMD; Saifuku, KMD; Kawata, HMD; Tokumaru, KMD; Kojima, TMD; Seki, MMD. (1998) *The American Journal of Gastroenterology*. 93 (4) 569-573.

Schütze K, Hentschel E, Dragosics B, Hirschl AM (1995) *Helicobacter pylori* reinfection with identical organisms: transmission by the patients' spouses. *Gut*;36:831-3.

Selbach M, Moese S, Hurwitz R, Hauck CR, Meyer TF, Backert S (2003) The *Helicobacter pylori* CagA protein induces cortactin dephosphorylation and actin rearrangement by c-Src inactivation. *EMBO J.*;22:515-528.

Sepúlveda, AR (2001) Molecular testing of *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis and premalignant gastric lesions. *J. Clin. Gastroenterol.*, 32(5): 377-82.

Shimada T, Ogura K, Ota S, Terano A, Takahashi M, Hamada E. (1994) Identification of *Helicobacter pylori* in gastric specimens, gastric juice, saliva, and faeces of japaneses patients [Letter]. *Lancet*; 343:1636.

Silva JP, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AMC, Bittencourt P, MMDA Cabral (2004) babA2 as a risk factor for duodenal ulcer. *Helicobacter*;9:549.

Souto FJ; Fontes CJ; Rocha GA; de Oliveira AM; Mendes EN; Queiroz DM (1998) Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a rural area of the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 93(2): 171-4.

Strauchen JA (2000) Further called for "Teleconsultation". *Am. J. Clin. Pathol.* 113(4): 595.

Struthers, JK & Westran, RP (2005) *Clinical Bacteriology*. Ed. Masson, São Paulo.

Suto, H; Azuma, T; Ito, S; Ito, Y; Miyaji, H; Yamazaki, Y; Kohli, Y; Kuriama, M (2000) Endoscopic [¹³C]- urea breath test for quantification of *Helicobacter pylori* infection. *J. of Gastroenterology and Hepatology* 15, 161-167.

Synopsis A (1996) Image and Sign Process. Yearbook of medical Informatics. Hasman (Ed.).

Tebbe B, Geilen CC, Schulzke JD. (1996) *Helicobacter pylori* infection and chronic urticaria. *J Am Acad Dermatol* 34:685-6.

Thomas JE, Gibson GR, Darboe MK, Dale A, Weaver LT. (1992) Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet*;340:1194-5.

Thomas, J.E (1994) Epidemiology of *Helicobacter pylori* infections. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.v.* 1, 6-13.

Toyonaka A, Okamatsu H, Sasaki K, Kimura H, Saito T, Shimizu S (2000) Epidemiological study on food intake and *Helicobacter pylori* infection. *Kurume Med J*;47:25-30.

True LD (1996) Morphometry Applications in Anatomic Pathology. *Hum. Pathol.* 27: 450-467.

Unemo, M ; Aspholm-Hurtig, M ; Ilvert, D ; Bergström, J ; Boren, T ; Danielsson, D ; Borén, T (2005) The sialic binding SabA adhesin of *Helicobacter pylori* is essential for nonopsonic activation of human neutrophils. *J Biol Chem*; 280:15390-7.

Van Der Hulst RWM, Köycü B, Keller JJ, Feller M, Rauws EAJ, Dankert J. (1996) *H. Pylori* reinfection after successful eradication analyzed by RAPD or RFLP. *Gastroenterology*;110(4):A284.

Vandamme, P; (1991) Revision of *Campylobacter* Falsen, E; Rossau, R; Hoste, B; Segers, P; Tytgat, R; De Ley, J. *obacter, Helicobacter, and Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. Nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41(1): 88-103; 116:269-276.

Vincent P, Gottrand F, Pernes P, Husson MA, Beju A, Leclerc H (1991) *Helicobacter pylori* infection in cohabiting children [Letter]. *Lancet*;337:848.

Waggoner A, Taylor L, Seadler A, Durlay T (1996) Multiparameter Fluorescence Imaging Microscopy: Reagents and Instruments. *Hum. Pathol.* 27: 494-502.

Walsh, JH (2000.) A pH-sensitive channel regulates urea across to *Helicobacter pylori* urease. *Gastroenterology*, 118: 249-50.

Weeks, DL & Sachs, G (2001) Sites of pH regulation of the urea channel of *Helicobacter pylori*. *Mol. Microbiol.*, 40(6): 1249-89.

Weinberg RJ, Valtschanoff JG, Kharazia VN, Schmidt HHHW (1994) Further anatomical study of NOS in rat hippocampus. *Soc Neurosci Abstr* 20:445.

Westblom TU, Fritz SB, Phadnis S, Midkiff BR, Leon-Barua R, Recavarren S (1993) PCR analysis of peruvian sewage water: support for fecal-oral spread of *Helicobacter pylori*. *Acta Gastroenterol.* 56(47).

Whimster WF, Cookson MJ (1995) Three-dimensional reconstruction. In: Quantitative Clinical Pathology. Hamilton PW (Ed.). Blackwell Science Ltd. Oxford. 289-300.

Yamaguchi, N & Kakizoe, T (2001) Synergistic interaction between *Helicobacter pylori* gastritis and diet in gastric cancer. *The Lancet Oncology* Vol 2.

Anexo 1. Aprovação do comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa**

Of. N.º 031/2007-CEP/CCS

Recife, 08 de março de 2007

Registro do SISNEP FR – 118828

CAAE – 0314.0.172.000-06

Registro CEP/CCS/UFPE Nº306/06

Título: “Análise Histomorfométrica de Lesões Gástricas relacionadas à infecção pelo *Helicobacter pylori*”

Pesquisador Responsável: Luciano de Albuquerque Mello

Senhor Pesquisador:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 08 de março de 2007.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório anual da Pesquisa.

Atenciosamente

Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS / UFPE

Ao
Mestrando Luciano de Albuquerque Mello
Mestrado em Patologia Geral – CCS/UFPE

Anexo 2. Trabalhos desenvolvidos durante o mestrado

Trabalhos apresentados em congresso

MELLO, L. A.; MELO JUNIOR, M.R; CARVALHO Jr, L.B; PONTES FILHO, N.T. "NEW METHOD TO QUANTIFICATION OF THE HILICOBACTER PYLORI IN HUMAN GASTRIC MUCOSAE BY IMAGE ANALYSIS SYSTEM". 25º Congresso Brasileiro de Patologia. RN, Natal, 2005

ALBUQUERQUE, ML ; CUNHA, T.S.B; MELLO, LA "AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DENTÁRIA DE LAMELAS E DENTINA INTERGLOBULAR COMO INDICATIVO DE CONDIÇÕES PRÉ-CARIOSAS" 18º Congresso Pernambucano de Odontologia. PE, Recife, 2006

MELLO, LA; ALBUQUERQUE, ML ; CUNHA, T.S.B; MELO. JUNIOR, M.R "IMPACTO DO CONHECIMENTO DAS NORMAS DE BIOSSEGURANÇA NA ATUAÇÃO PROFISSIONAL DO ODONTÓLOGO EM PERNAMBUCO" 2º Congresso Internacional de Odontologia, CE, Fortaleza, 2006

BERTÃO, H. G.; LIMA NETO, R. G.; MELLO, L. A.; BARATELLA EVÊNCIO, L. "ASPECTOS HISTOMORFOMÉTRICOS E ULTRAESTRUTURAIS DE CÉLULAS "MACROPHAGES-LIKE" NA INVOLUÇÃO DO RETÍCULO ESTRELADO DE GERMES DENTÁRIOS DE MOLARES DE RATO" 2º Congresso Internacional de Odontologia, CE, Fortaleza, 2006

Patu, V.J.R.M, Melo-Júnior, M.R., Mello, L.A; Araújo-Filho, J.L.S; Veiga, R.K.A.; Carvalho-Jr, L.B. **CHRONIC EFFECTS OF THE ETHANOL AND UNDERNUTRITION IN THE HISTOLOGICAL PROFILE OF PANCREAS.** XXXVI Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq) and 10th IUBMB Conference in Salvador da Bahia in Brazil, 2007.

Melo-Júnior, M.R; Araújo-Filho, J.L.S; Mello, L.A; Bertão, H.G; Carvalho-Jr, L.B; Beltrão, E.I.C. **HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE RENAL AND GASTROINTESTINAL TISSUES FROM RATS EXPOSED TO ALCOHOL.** XXXVI Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq) and 10th IUBMB Conference in Salvador da Bahia in Brazil, 2007.

Trabalhos submetidos e aprovados em periódicos

MELLO, Luciano Albuquerque; Melo-Junior, Mario Ribeiro; Albuquerque, Ana Cecília Cavalcanti; Coelho, Maria Rosângela Cunha Duarte. **Hepatitis C serum prevalence in the hemodialysed patients.** *Submetido à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical em dezembro de 2006.*

VEIGA, Renata Kelly de Araújo ; MELO JÚNIOR, Mário Ribeiro de ; **MELLO, Luciano de Albuquerque;** ARAÚJO FILHO, Jorge Luiz Silva; PONTES-FILHO, Nicodemos Teles de. **Alterações imuno-morfológicas no timo, baço e placas de Peyer durante a exposição pré e pós-natal ao álcool: um estudo morfométrico.** *Submetido á Revista Eletrônica de Farmácia em março de 2007.*

MELO JÚNIOR, Mário Ribeiro de ; ARAÚJO FILHO, Jorge Luiz Silva; PATU, Vasco José Ramos; MACHADO, Marcos Cezar Feitosa, **MELLO, Luciano de Albuquerque;** CARVALHO JR, Luiz Bezerra. Langerhans cells in cutaneous tumour: immunohistochemistry study using a computer image analysis system. **J Mol. Hist. (2006) 37:321-325.**

E.P.A Lopes; E.C, Gouveia; A.C.C , Albuquerque; L.H.B.C, Sette; **L.A, Mello;** R.C, Moreira; M.R.C.D, Coelho. Determination of cutt-of value of serum alanine aminotransferase in patients undergoing hemodialysis, to identify biochemical activity in pacients with hepatitis C viremia. **Journal of Clinical Virology. 35 (2006) 298-302.**