

Biopatologia do *Helicobacter pylori*

Biopathology of *Helicobacter pylori*

Marcelo Sady Plácido Ladeira¹
Daisy Maria Fávero Salvadori²
Maria Aparecida Marchesan Rodrigues³

unitermos	resumo
<i>Helicobacter pylori</i> Ilha de patogenicidade <i>cag</i> Processo inflamatório Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio	A infecção pelo <i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) induz inflamação persistente na mucosa gástrica com diferentes lesões orgânicas em humanos, tais como gastrite crônica, úlcera péptica e câncer gástrico. Os fatores determinantes desses diferentes resultados incluem a intensidade e a distribuição da inflamação induzida pelo <i>H. pylori</i> na mucosa gástrica. Evidências recentes demonstram que cepas do <i>H. pylori</i> apresentam diversidade genotípica, cujos produtos acionam o processo inflamatório por meio de mediadores e citocinas, que podem levar a diferentes graus de resposta inflamatória do hospedeiro, resultando em diferentes destinos patológicos. Cepas <i>H. pylori</i> com a ilha de patogenicidade <i>cag</i> induzem resposta inflamatória mais grave, através da ativação da transcrição de genes, aumentando o risco para desenvolvimento de úlcera péptica e câncer gástrico. O estresse oxidativo e nitrosativo induzido pela inflamação desempenha importante papel na carcinogênese gástrica como mediador da formação ou ativação de cancerígenos, danos no DNA, bem como de alterações da proliferação celular e da apoptose.

abstract

key words

Helicobacter pylori (*H. pylori*)-infection causes persistent inflammation with different clinical outcomes in humans, including chronic gastritis, peptic ulcer, and gastric cancer. The key determinants of these outcomes are the severity and distribution of the *H. pylori*-induced inflammation. Recent evidence has demonstrated that *H. pylori* strains possess genotypic diversity whose products trigger inflammatory process and the main mediators and cytokines, which may engender differential host inflammatory responses with distinct clinical outcomes. *H. pylori* strains that possess the *cag* pathogenicity island induce more severe inflammation via activation of gene transcription, thus enhancing the risk for peptic ulcer and distal gastric cancer. The oxidative and nitrosative stress induced by inflammation plays an important role in gastric carcinogenesis as a mediator of carcinogen formation, DNA damage, and imbalances between cell proliferation and apoptosis.

Helicobacter pylori
Cag pathogenicity island
Inflammatory process
Reactive oxygen and nitrogen species

Introdução

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 (6, 24).

O câncer gástrico pode ser considerado resultado de um complexo processo, que evolui da mucosa nor-

mal, via gastrite crônica até gastrite atrófica, metaplasia intestinal, displasia e neoplasia (13). 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 even-

1. Pós-doutorando; doutor em Genética; biólogo do Núcleo de Avaliação Toxicogenética e Cancerígena (Toxican) do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (FMB/Unesp).
2. Pesquisadora científica; doutora em Genética; biomédica do Toxican e do Departamento de Patologia da FMB/Unesp.
3. Professora adjunta; livre-docente em Patologia; médica patologista do Departamento de Patologia da FMB/Unesp.
Este trabalho foi realizado no Toxican e no Departamento de Patologia da FMB/Unesp.
Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), bolsa de pós-doutorado 02/05043-5 e Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa (CNPq), bolsa de Pesquisa 52189397-6.

tos são presumivelmente precursores do câncer gástrico (19). 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, possam estar relacionados à carcinogênese gástrica (55).

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 (9, 19, 66). 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 (66). 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 (56)

Microbiologia do *H. pylori*

O gênero *Helicobacter* foi definido por estudos de composição do RNA ribossômico (61), de seqüenciamento e hibridação do DNA da bactéria (28). Este gênero, juntamente com outros (*Campylobacter*, *Arcobacter* e *Wolinella*), constitui a superfamília VI de bactérias gram-negativas definidas por Vandamme et al. (74).

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

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 (8). O *H. pylori* pode distribuir-se de maneira focal, segmentar ou difusa ao longo da mucosa gástrica (77), localizando-se no interior ou sob a camada de muco que recobre o epitélio da superfície ou

das foveolas, em íntimo contato com a membrana luminal das células epiteliais que revestem a mucosa gástrica.

O *H. pylori* possui capacidade excepcional de aderência (72). É adaptado para colonizar somente a mucosa gástrica, sendo observado raramente em áreas de metaplasia intestinal. No duodeno, a bactéria coloniza áreas de metaplasia gástrica (47, 59), fator de grande importância para seu papel na patogênese da úlcera péptica duodenal. 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 (59).

Epidemiologia e transmissão

A gastrite induzida pelo *H. pylori* é uma das infecções mais comuns na espécie humana, comprometendo cerca de metade da população mundial (8). A bactéria apresenta distribuição cosmopolita, sendo encontrada em habitantes dos cinco continentes (27, 57). 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 (44). Na França, a soropositividade em indivíduos menores de 18 anos é de 7%, enquanto na Argélia e na Costa do Marfim, está em torno de 62% e 64%, respectivamente (49).

A infecção pelo *H. pylori*, em países desenvolvidos, ocorre após os três ou cinco anos de idade; já em países em desenvolvimento, crianças com menos de um ano podem estar contaminadas (11, 49). 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 (11). Estes dados são similares aos encontrados por Coelho et al. (12) em adultos sintomáticos na mesma cidade. A grande maioria dos pacientes, nos dois estudos, era de baixo nível socioeconômico.

Estudos brasileiros encontraram as seguintes prevalências: 59,5% no Rio de Janeiro (RJ) (68); 76,3% em São Paulo (SP) (23); 83% em Santa Maria (RS) (50); 84,7% em Nossa Senhora do Livramento (MT) (69); 85,18% em Botucatu (SP) (39); 87% em Araçuaí (MG) (52); 89,6% em Campinas (SP) (45) e 96% em São Luís (MA) (7).

Embora cerca de 50% da população mundial estejam contaminados pelo *H. pylori*, os mecanismos de transmissão

constituem motivo de muita controvérsia. As vias oral-oral e fecal-oral parecem ser as principais formas de transmissão. Entretanto as taxas reais não foram estabelecidas (48).

Klein *et al.* (38) sugeriram que a água contaminada por matéria fecal constitui importante fonte de infecção. Em 1994, Kelly *et al.* (37) conseguiram isolar a bactéria das fezes de indivíduos colonizados. Recentemente foi relatado que o *H. pylori* pode ser transmitido sexualmente por via oral-anal (21).

Segundo Bujanover *et al.* (10), a aglomeração intra-familiar também é um fator importante. Drumm *et al.* (18) obtiveram sorologia positiva em mais de 80% de irmãos colonizados com a bactéria. Malaty *et al.* (46) constataram maior incidência de crianças com *H. pylori*, filhos de pais infectados, em relação a crianças cujos pais não eram portadores deste microorganismo. Langenberg *et al.* (41) 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 (3, 36, 62).

Patogênese e fatores de virulência do *H. pylori*

O resultado clínico da infecção pelo *H. pylori* é determinado pela complexa interação entre fatores do hospedeiro e da bactéria. Enquanto os fatores do hospedeiro permanecem desconhecidos, a identificação dos da bactéria avança continuamente.

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 600KDa), 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 (79). 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 (35).

A maior parte da urease sintetizada pela bactéria situa-se em seu citoplasma. A produção de amônia depen-

de 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 urel (76, 78, 79). Cepas do *H. pylori* com deleção de urel não sobrevivem em pH ácido. Weeks *et al.* (78) demonstraram que a entrada de uréia na bactéria é acelerada em pH 5 e diminuída em pH 7. A entrada de uréia é altamente específica, não sendo facilmente saturada, e independe de temperatura e energia (76, 79). Portanto o *H. pylori* 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. A proteína urel 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 (76, 79).

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 (35). No entanto lipases e proteases sintetizadas pelo *H. pylori* degradam a camada de muco, facilitando a progressão da bactéria. 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 (35). 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 (30).

Genes do *H. pylori* associados à virulência

Até o presente, a biotipagem, a análise do genoma e a diversidade plasmídica permitiram a identificação de cerca de quarenta cepas da bactéria não-relacionadas epidemiologicamente. As variações genômicas das cepas podem ser responsáveis pela codificação de diferentes fatores de virulência, capazes de determinar diversos tipos de lesão no hospedeiro (8).

Gene *cagA*

O primeiro gene cepa-específico identificado no *H. pylori* foi o *citotoxin antigen associated (cagA)*, que está fortemente associado ao risco para desenvolvimento de câncer gástrico (56). As cepas *cagA*⁺ tendem a ser mais viru-

lentas e induzem níveis mais altos de expressão de citocinas, tais como IL-1b e IL-8 (8). Parsonnet *et al.* (54) mostraram que pacientes infectados por cepas que expressam *cagA* têm probabilidade três vezes maior de desenvolver câncer gástrico do que aqueles infectados por cepas *cagA*⁻. O gene *cagA* é considerado marcador da ilha de patogenicidade *cag* (*cag-PAI*), que possui de 35 a 40Kb, comporta 31 genes (8) e é encontrada em cerca de 60% das cepas ocidentais. A ilha *cag-PAI* é um componente do genoma do *H. pylori* que contém genes homólogos aos de outras bactérias que codificam componentes do sistema de secreção do tipo IV, que atua como agulha e serve para injetar moléculas efetoras da bactéria na célula hospedeira, permitindo que a bactéria module vias do metabolismo celular da célula hospedeira, incluindo a expressão de proto-oncogenes (14, 15).

Recentemente, quatro grupos de pesquisadores (1, 53, 65, 70) demonstraram que componentes do *H. pylori* induzem alterações na fosforilação de tirosinas, nas vias de sinalização e de transdução da célula hospedeira, resultando em rearranjos do citoesqueleto e alterações morfológicas que estimulam a célula a se espalhar e se alongar de maneira idêntica à produzida pelo fator de crescimento de hepatócitos (Figura 1). Além disso, fatores da

bactéria podem induzir a desfosforilação de proteínas normalmente fosforiladas (5).

A proteína *cagA* do *H. pylori* atua como antígeno altamente imunogênico. A estrutura do gene revela uma região 5' altamente conservada, mas com uma região 3' com número variável de seqüências repetitivas, o que leva à variação do comprimento da proteína. Como a proteína *CagA* é fortemente imunogênica, qualquer variação em seu comprimento pode levar a diferentes respostas do hospedeiro, incluindo diferentes graus de resposta inflamatória.

Yamaoka *et al.* (80) estudaram a variabilidade da região 3' do gene *cagA* para investigar se diferenças nesta região estariam relacionadas a diferentes processos patológicos. Estes autores constataram que 86% de uma das variantes eram provenientes de pacientes com câncer gástrico e concluíram que outras diferenças na região 3' do gene *cagA* podem estar relacionadas a diferentes processos patológicos.

Gene *vacA*

A colonização da mucosa gástrica pelo *H. pylori* requer um complexo processo adaptativo. O fator-chave, que permite à bactéria sobreviver à acidez gástrica e atravessar o lúmen do estômago, é a enzima urease, que converte a uréia em amônia e bicarbonato (73). Para isso é necessária a produção da citotoxina *vacA*, que induz a formação de canais seletivos de ânions nas células epiteliais, levando à exsudação de uréia para a luz da mucosa gástrica. A *vacA* é considerada importante fator de virulência, visto que contribui para a produção de alcalóides pela urease, que podem induzir danos no DNA (16, 63, 73).

O gene *vacA* está presente em todas as cepas do *H. pylori* e compreende duas partes variáveis, *s* e *m* (Figura 2). A região *s* (codifica o sinal peptídico) está localizada no final da cadeia 5' e possui dois alelos, *s1* ou *s2*, sendo que para o alelo *s1* existem três subtipos: *s1a*, *s1b* e *s1c*; a região média (*m*) possui os alelos *m1* ou *m2* (2). A combinação em mosaico dos alelos da região *s* com os alelos da região *m* determina a produção de citotoxinas, responsáveis pelo grau de virulência da bactéria. As cepas portadoras do genótipo *vacA s1/m1* produzem grande quantidade de toxina, enquanto as cepas *s1/m2* produzem quantidade moderada, e as cepas *s2/m2*, pouca ou nenhuma toxina. As cepas *vacA* do tipo *s1a* parecem ser mais patogênicas que as *s1b* e *s1c* ou *s2*, sendo mais relacionadas à úlcera péptica. As cepas do tipo *m1* estão associadas a maior risco de danos às células epiteliais do que as do tipo *m2* (4, 75).

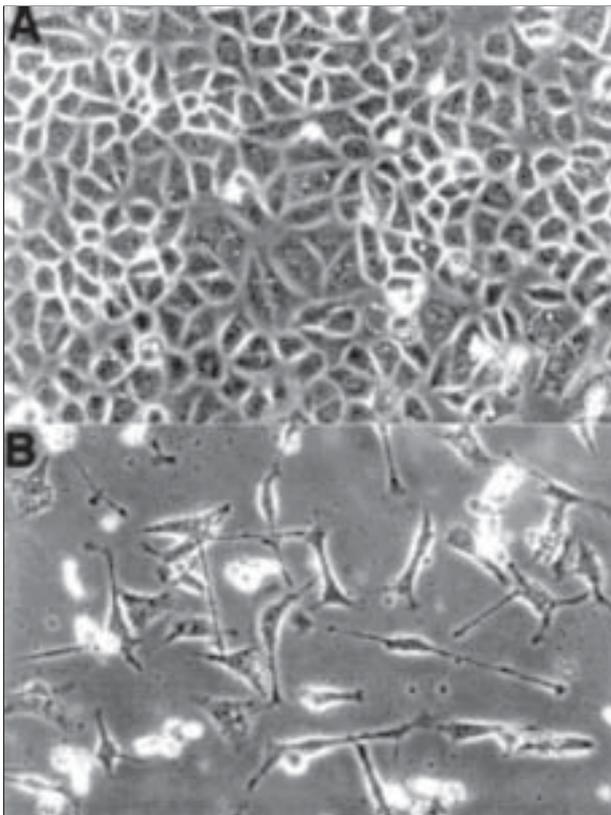


Figura 1 – Microscopia de contraste de fase. (A) Células normais da linhagem celular de adenocarcinoma gástrico (AGS); (B) células AGS após 30h de infecção pelo *H. pylori*. Adaptado de Segal *et al.* (65)



Figura 2 – Mosaico do gene *vacA*. Adaptado de Atherton et al. (2)

Gene *babA*

Fatores de aderência da bactéria ao epitélio gástrico favorecem a colonização e contribuem para sua patogenicidade (58). O fator de aderência *blood group antigen adhesin (babA)* ligado ao grupo sanguíneo Lewis^b foi descoberto recentemente (31). Ele pode ser um importante produto de patogenicidade ao permitir o contato entre a bactéria e o epitélio e facilitar a liberação de fatores de virulência como *cagA* e *vacA*. O gene *babA* possui dois alelos distintos: *babA1* e *babA2*. Em 1999, Gerhard et al. (26) demonstraram associação entre o alelo *babA2* e a presença de úlcera péptica e adenocarcinoma gástrico.

Gene *cagE*

O predomínio de neutrófilos na mucosa gástrica, observado em pacientes infectados por cepas *cag-PAI*⁺, é ligado ao aumento de secreção de interleucina-8 (IL-8) secretada pelas células epiteliais da mucosa gástrica. Entretanto cepas *cagA* negativas também induzem aumento da secreção de IL-8 (60). Isto se deve ao fato de que a proteína *cagA* não atua diretamente sobre a IL-8. O gene ligado ao aumento da produção de IL-8 é o *cagE*, que é um dos genes da ilha *cag* (51).

Gene *iceA*

Recentemente, outro gene do *H. pylori* foi descrito e denominado *induced by contact with epithelium (iceA)*. Existem dois alelos deste gene: *iceA1* e *iceA2*. A função de *iceA1* não está clara, mas este alelo apresenta forte homologia com a endonuclease de restrição do tipo II da *Neisseria lactamica*. Sua expressão é regulada pelo contato do *H. pylori* com as células epiteliais da mucosa gástrica. A expressão deste alelo é associada à úlcera péptica e

ao câncer gástrico (56). A função do alelo *iceA2* também é desconhecida.

Gene *HP-NAP*

A gastrite induzida pelo *H. pylori* é caracterizada por infiltrado inflamatório constituído por neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos. A intensidade da inflamação correlaciona-se com a severidade dos danos induzidos à mucosa e ao DNA (39, 40). Em 1995, Evans Jr. et al. (22) descreveram o gene *neutrophils-activating protein (HP-NAP)* do *H. pylori* e relacionaram sua expressão ao potencial de indução de inflamação, mesmo em cepas *cagA* negativas. O produto do gene *HP-NAP* induz aderência de neutrófilos às células endoteliais e estimula a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio pelos neutrófilos (64).

Fatores do hospedeiro

A resposta imune adequada consiste em eliminar o agente agressor sem comprometer a integridade e a função do órgão envolvido (20). Durante a infecção pelo *H. pylori* há predomínio de células Th1, enquanto as Th2 estão praticamente ausentes. Isto resulta em resposta imune inadequada, que não consegue eliminar o microorganismo. Além disso, células Th1 induzem a produção de anticorpos e citocinas, que contribuem para o aumento do processo inflamatório, com conseqüentes danos às células do hospedeiro. Fox e Wang (24) demonstraram que camundongos p53^{+/-}, infectados por *Helicobacter felis*, apresentaram resposta Th1 mais amena e menor risco de desenvolvimento de câncer gástrico.

Interleucinas e câncer gástrico

Alguns estudos têm indicado que a infecção pelo *H. pylori* induz inflamação por vários mecanismos, entre eles o contato direto com as células epiteliais, a estimulação e a liberação de citocinas. Pacientes infectados pelo *H. pylori* apresentam altos níveis de expressão e produção de IL-1-β, IL-6, IL-8 e TNF-α (19, 32, 66).

O cluster do gene da interleucina-1 (IL-1), localizado no braço longo do cromossomo 2, contém três genes relacionados dentro de uma região de 430kb: IL-1A, IL-1B e IL-1RN, que codifica as citocinas pró-inflamatórias IL-1α e IL-1β. A IL-1β é um importante fator de iniciação e amplificação da resposta inflamatória, e atua como poderoso inibidor de secreção ácida (hipocloridria).

Vários estudos relatam que o *H. pylori* ativa o gene NF- κ B de células epiteliais da mucosa gástrica *in vivo* e *in vitro* (51). Este gene codifica um fator de transcrição que ativa a produção de interleucinas. A translocação nuclear de NF- κ B é seguida do aumento da expressão de IL-8 (51). A IL-8, potente ativadora de neutrófilos, tem seu nível de expressão gênica relacionado à intensidade da gastrite. *In vitro*, o *H. pylori* estimula a liberação de IL-8, e estes eventos requerem interação entre a bactéria e as células epiteliais da mucosa gástrica, que, através deste mecanismo, estimulam a quimiotaxia de neutrófilos.

Neutrófilos ativados geram espécies reativas de oxigênio e/ou de nitrogênio, que podem induzir danos oxidativos no DNA e danos às células epiteliais, as quais incluem peroxidação lipídica e oxidação de proteínas, levando a alterações do *turnover* celular (32). A taxa de proliferação de células epiteliais gástricas de pacientes infectados pelo *H. pylori* é significativamente mais alta do que a de indivíduos não-infectados (32). A infecção crônica pela bactéria induz aumento dos índices de apoptose, que podem acelerar a progressão para gastrite atrófica, com conseqüente aumento do risco para desenvolvimento de câncer gástrico (32).

Vários trabalhos destacam a importância da expressão de interleucina-6 (IL-6) e da cicloxigenase-2 (Cox-2) na inibição de apoptose em células da mucosa gástrica de pacientes infectados por *H. pylori* (42, 71). Esta redução da morte celular por apoptose, acompanhada por hiperproliferação, pode levar ao acúmulo de mutações, contribuindo para a gênese do câncer gástrico (32).

H. pylori e danos oxidativos

A alteração histológica mais evidente na mucosa gástrica, induzida pela presença do *H. pylori*, é a resposta inflamatória, cuja atividade depende da capacidade de resposta do hospedeiro e da atividade bacteriana (32). Nos processos inflamatórios, diferentes fagócitos, tais como neutrófilos, macrófagos e eosinófilos, geram radicais livres em resposta a mediadores pró-inflamatórios e produtos da parede celular bacteriana (67). Os radicais livres de oxigênio gerados no processo inflamatório reagem com o DNA e podem induzir alteração da expressão de proto-oncogenes (17), bem como gerar produtos genotóxicos como 8-hidroxinonanal ou malondialdeído, capazes de interagir com alvos moleculares no DNA, ou podem converter pró-carcinógenos em cancerígenos (17).

A instabilidade genômica demonstrada pela instabilidade de microssatélites (MSI) é observada em 13%-44% dos casos de câncer gástrico. A maioria das MSI de alto nível é associada a defeitos do sistema de reparo (29), que podem ser induzidos por radicais livres de oxigênio (25, 43).

Baik *et al.* (6) encontraram altos níveis de danos oxidativos no DNA de células da mucosa gástrica na fase precoce de infecção pelo *H. pylori*. Os autores destacaram que estes resultados favorecem a hipótese de que a infecção pelo *H. pylori* seja o denominador comum entre a gastrite crônica e o carcinoma gástrico.

H. pylori e síntese de óxido nítrico

As espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem ter importante papel na carcinogênese gástrica por induzir danos no DNA direta ou indiretamente (33). As espécies reativas de nitrogênio são derivadas da síntese de óxido nítrico e induzidas por citocinas liberadas pelas células mononucleares da inflamação (34). Pacientes infectados pelo *H. pylori* apresentam altos níveis de expressão da enzima óxido nítrico-sintase induzível (iNOS) (66).

O óxido nítrico pode favorecer o acúmulo de mutações potencialmente oncogênicas por mecanismos como a inibição das enzimas do sistema de reparo, como hOGG1, que é responsável por mais de 95% da atividade da via de reparo por excisão de base (BER), tal como a excisão de 8-hidroxideoxiguanosina, que é o principal produto da atuação dos radicais livres. O óxido nítrico leva à inativação do processo de apoptose pela nitrosilação de proteínas pró-apoptóticas, tais como p53 e caspases, permitindo desta forma a sobrevivência de células com danos no DNA (33).

Considerações finais

As diferentes lesões orgânicas relacionadas à infecção pelo *H. pylori* resultam da interação entre os fatores de virulência da cepa infectante e a resposta inflamatória do hospedeiro. Novas tecnologias já disponíveis deverão acelerar o progresso da pesquisa nesta área e oferecer métodos mais efetivos de investigação da biopatologia da infecção pelo *H. pylori*. O uso de tecnologias que permitam a análise do padrão de expressão de genes da bactéria e do hospedeiro facilitará a identificação de indivíduos suscetíveis ao desenvolvimento de câncer gástrico, bem como de novos caminhos terapêuticos.

Referências

- Asahi, M. et al. *Helicobacter pylori* cagA protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. *J. Exp. Med.*, 191(4): 593-602, 2000.
- Atherton, J.C. et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J. Biol. Chem.*, 270(30): 17771-7, 1995.
- Atherton, J.C. The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori*. *Gut*, 40: 701-3, 1997.
- Atherton, J.C. et al. Simple and accurate PCR-based system for typing vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J. Clin. Microbiol.*, 37(9): 2979-82, 1999.
- Atherton, J.C. CagA: a role at last. *Gut*, 47(3): 330-1, 2000.
- Baik S.C. et al. Increased oxidative DNA damage in infected human gastric mucosa. *Cancer Res.*, 56: 1279-82, 1996.
- Bezerra, J.M. et al. Infecção gástrica por *Helicobacter pylori* em pacientes sintomáticos da ilha de São Luis, MA: correlação endoscópica, anatomopatológica e microbiológica. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 29(3): 245-50, 1996.
- Blaser, M.J. & Berg, D.E. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. *J. Clin. Invest.*, 107(7): 767-73, 2001.
- Brenner, H.; Bode, G. & Boeing, H. *Helicobacter pylori* infection among offspring of patients with stomach cancer. *Gastroenterology*, 118: 31-5, 2000.
- Bujanover, Y. et al. *Helicobacter pylori* e doença péptica no paciente pediátrico. *Clin. Ped. Am. Norte*, 7: 215-35, 1997.
- Carvalho, A.S.T. et al. Diagnosis and distribution of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of symptomatic children. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 24: 163-6, 1991.
- Coelho, L.G.V.; Das, S.S. & Karim, Q.N. *Campylobacter pyloridis* in the upper gastrointestinal tract: a Brazilian study. *Arq. Gastroenterol.*, 24(1): 5-9, 1987.
- Correa, P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res.*, 52: 6735-40, 1992.
- Covacci, A. et al. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science*, 284: 1328-33, 1999.
- Covacci, A. & Rappuoli, R. Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins: Trojan horses for the host cell. *J. Exp. Med.*, 191: 587-92, 2000.
- Debellis, L. et al. *Helicobacter pylori* cytotoxin vacA increases alkaline secretion in gastric epithelial cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 281(6): G1440-8, 2001.
- Drake, I.M. et al. Ascorbic acid may protect against human gastric cancer by scavenging mucosal oxygen radicals. *Carcinogenesis*, 17(3): 559-62, 1996.
- Drumm, B. et al. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *N. Engl. J. Med.*, 22: 359, 1990.
- El-Omar, E.M. et al. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H. pylori*. *Gastroenterology*, 118: 22-30, 2000.
- Ernst, P.B.; Crowe, S.E. & Reyes, V.E. How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? The inflammatory response. *Gastroenterology*, 113(suppl. 6): S35-42, 1997.
- Eslick, G. Sexual transmission of *Helicobacter pylori* via oral-anal intercourse. *Int. J. Std. Aids*, 13 (1): 7-11, 2001.
- Evans Jr, D.J. et al. Characterization of *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein. *Infect. Immun.*, 63(6): 2213-20, 1995.
- Ferrari Jr, A.P.; Geoczze, S. & Trabulsi, L.R. *Campylobacter pylori* in dyspeptic patients. *Rev. Hosp. S. Paulo/Esc. Paul. Med.*, 1(2): 65-8, 1989.
- Fox, J.G. & Wang T.C. *Helicobacter pylori* infection: pathogenesis. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 18: 15-25, 2002.
- Gasche, C. et al. Oxidative stress increases frameshift mutations in human colorectal cancer cells. *Cancer Res.*, 61: 7444-8, 2001.
- Gerhard, M. et al. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen adhesin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96: 12778-83, 1999.
- Go, M.F. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 16 (suppl. 1): 3-15, 2002.
- Goodwin, C.S. et al. *Campylobacter pylori* become *Helicobacter pylori*. *Int. J. Bacteriol.*, 39: 353-405, 1989.
- Halling, K.C. et al. Origin of microsatellite instability in gastric cancer. *Am. J. Pathol.*, 155(1): 205-11, 1999.
- Hazell, S.L.; Evans, D.J. & Graham, D.Y. *Helicobacter pylori*. *J. Gen. Microbiol.*, 137: 57-61, 1991.
- Illver, D. et al. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science*, 279: 373-9, 1998.
- Israel, D.A. & Peek, R.M. Review article: pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 15: 1271-90, 2001.
- DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide dependent mechanism. *Cancer Res.*, 60: 184-90, 2000.
- Jaiswal, M. et al. Human Ogg1, a protein involved in the repair of 8-oxoguanine, is inhibited by nitric oxide. *Cancer Res.*, 61: 6388-93, 2001.
- Jenks, P.J. & Kusters, J.G. Pathogenesis and virulence of *Helicobacter pylori*. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 16(suppl. 1): S11-8, 2000.
- Kapadia, C.R. Host factors in *Helicobacter* infection. *Gastroenterology*, 113 (1): 361-2, 1997.
- Kelly, S.M., Pitcher, M.C.L. & Farmery, S.M. Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. *Gastroenterology*, 107(6): 1671-4, 1994.
- Klein, P.D.; Graham, D.Y. & Gaillour, G.L. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Lancet*, 337(8756): 1503-6, 1991.
- Ladeira, M.S.P. *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, 1997.
- Ladeira, M.S.P. *Estudo dos danos no DNA de células epiteliais da mucosa gástrica de pacientes com gastrite crônica, úlcera péptica e câncer gástrico, infectados ou não pelo Helicobacter pylori*. Botucatu, 2002. Tese de doutorado. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- Langenberg, W.; Rauws, E.A.J. & Oudbrier, J.K. Patient to patient transmission of *Campylobacter pylori* infection by fiberoptic gastroduodenoscopy and biopsy. *J. Infect. Dis.*, 161: 507, 1990.
- Lin, M. et al. IL-6 inhibits apoptosis and retains oxidative DNA lesions in human gastric cancer AGS cells through up-

- regulation of anti-apoptotic gene mcl-1. *Carcinogenesis*, 22(12): 1947-53, 2001.
43. Loeb LA. A mutator phenotype in cancer. *Cancer Res.*, 61(8): 2330-9, 2001.
 44. 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.
 45. Magalhães, A.F.N. et al. Gastrite crônica associada ao *Helicobacter pylori* em pacientes com dispepsia não-ulcerosa e com úlcera duodenal. *Rev. Paul. Med.*, 109(5): 197-203, 1991.
 46. Malaty, H.M. et al. Transmission of *Helicobacter pylori* infection. Studies in families of healthy individuals. *Scand. J. Gastroenterol.*, 26(9): 927-32, 1991.
 47. Marschall, B.J. et al. *Campylobacter pylori* infection and gastroduodenal disease. *Med. J. UST*, 142: 439-44, 1985.
 48. Marschall, B.J. *Helicobacter pylori* in the year 2000. *Helicobacter pylori* Foundation, p. 1-9, 2000. Disponível em <http://www.helicobacter.com/hpy2k/frMain.htm>. Acesso em 8/8/2001.
 49. Mégraud, F. Microbiological characteristics of *Campylobacter pylori*. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1: 5-12, 1989.
 50. 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.
 51. Naito, Y. & Yoshikawa, T. Molecular and cellular mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 33(3): 323-36, 2002.
 52. Oliveira, A.M.R. et al. Prevalence of *H. pylori* infection in a population from the rural area of Araçuaí, MG, Brazil. *Rev. Microbiol.*, 30(1): 59-61, 1999.
 53. Ondebreit S. et al. Translocation of *Helicobacter pylori* *cagA* into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science*, 287: 1497-500, 2000.
 54. Parsonnet, J. et al. Risk for gastric cancer in people with *cagA* positive or *cagA* negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 40: 297-301, 1997.
 55. Peek, R.M.; Moss, S.F. & Tham, K.T. *cagA*+ strains and dissociation of gastric epithelial proliferation from apoptosis. *J. Natl. Cancer Inst.*, 89: 863-8, 1997.
 56. Peek, R.M. et al. *Helicobacter pylori* strain-specific genotypes and modulation of the gastric epithelial cell cycle. *Cancer Res.*, 59: 6124-31, 1999.
 57. Peterson, W.L. Review article: *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 16(suppl. 1): 40-6, 2002.
 58. Prinz, C. et al. Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during gastric inflammation. *Cancer Res.*, 61: 1174-80, 2001.
 59. Queiroz, D.M.M. & Mendes, E.N.H. *Helicobacter pylori* e outros microrganismos espiralados gástricos: aspectos microbiológicos. In: Castro, L.P.; Rocha, P.R.S. & Coelho, L.G.V. (eds.) *Tópicos em gastroenterologia*. São Paulo: Medsi, 1993. v. 4, p. 235-48.
 60. Queiroz, D.M.M. et al. *CagA*-positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. *Int. J. Cancer.*, 78: 135-9, 1998.
 61. Romaniuk, P.J. et al. *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. *J. Bacteriol.*, 169(5): 2137-41, 1987.
 62. Sakagami, T. et al. Host factors in *Helicobacter* infection. *Gut*, 39: 639-48, 1996.
 63. Salama, N.R. et al. Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* plays a role during colonization in a mouse model of infection. *Infect. Immun.*, 69(2): 730-6, 2001.
 64. Satin, B. et al. The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor. *J. Exp. Med.*, 191(9): 1467-76, 2000.
 65. Segal, E.D. et al. Altered states: involvement of phosphorylated *cagA* in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96: 14559-64, 1999.
 66. Sepúlveda, A.R. Molecular testing of *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis and premalignant gastric lesions. *J. Clin. Gastroenterol.*, 32(5): 377-82, 2001.
 67. Sokol, R.J. & Hoffenberg, E.J. Antioxidantes na doença gastrointestinal pediátrica. *Clin. Ped. Am. Norte*, 8: 457-72, 1997.
 68. Solari, C.A. et al. *Helicobacter pylori* in dyspeptic children and adults: endoscopic, bacteriologic and histologic correlations. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 89(4): 581-6, 1994.
 69. Souto, F.J.D. et al. 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.
 70. Stein M.; Rappuoli R. & Covacci A. Tyrosine phosphorylation of the *Helicobacter pylori* *cagA* antigen after *cag*-driven host cell translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 1263-8, 2000.
 71. Sung J.J. et al. Cyclooxygenase-2 expression in *Helicobacter pylori*-associated premalignant and malignant gastric lesions. *Am. J. Pathol.*, 157(3): 729-35, 2000.
 72. Thomsen, L.L.; Gavin, B.J. & Tasman-Jones, C. Relation of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa in chronic gastritis of the antrum. *Gut*, 32(1): 230-6, 1990.
 73. Tombola, F. et al. The *Helicobacter pylori* toxin is a urea permease that promote urea diffusion across epithelia. *J. Clin. Invest.*, 108(6): 929-37, 2001.
 74. Vandamme, P. et al. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. *Nov. Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41(1): 88-103, 1991.
 75. Van-Doorn, L. et al. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, *iceA* status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 115: 59-66, 1998.
 76. Walsh, J.H. A pH-sensitive channel regulates urea across to *Helicobacter pylori* urease. *Gastroenterology*, 118: 249-50, 2000.
 77. Warren, J.R. & Marshall, B.J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 16 1(8390): 1311-5, 1984.
 78. Weeks, D.L. et al. H⁺-gated urea channel: the link between *Helicobacter pylori* urease and gastric colonization. *Science*, 287: 482-5, 2000.
 79. Weeks, D.L. & Sachs, G. Sites of pH regulation of the urea channel of *Helicobacter pylori*. *Mol. Microbiol.*, 40(6): 1249-89, 2001.
 80. Yamaoka Y. et al. Variants of the 3' region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different *H. pylori*-associated diseases. *J. Clin. Microbiol.*, 36(8): 2258-63, 1998.

Endereço para correspondência

Maria Aparecida Marchesan Rodrigues
Departamento de Patologia
Faculdade de Medicina de Botucatu
Universidade Estadual Paulista
Rubião Júnior s/n - Rubião Júnior
CEP 18618-000 - Botucatu-SP