

Adriana Maria Kakehasi

**GASTRITE AUTO-IMUNE E GASTRITE ASSOCIADA À INFECÇÃO PELO
HELICOBACTER PYLORI – ESTUDO HISTOLÓGICO E IMUNO-HISTOQUÍMICO
DA MUCOSA GÁSTRICA OXÍNTICA E CORRELAÇÃO COM A DENSIDADE
MINERAL ÓSSEA**

Universidade Federal de Minas Gerais

2008

Adriana Maria Kakehasi

**GASTRITE AUTO-IMUNE E GASTRITE ASSOCIADA À INFECÇÃO PELO
HELICOBACTER PYLORI – ESTUDO HISTOLÓGICO E IMUNO-HISTOQUÍMICO
DA MUCOSA GÁSTRICA OXÍNTICA E CORRELAÇÃO COM A DENSIDADE
MINERAL ÓSSEA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina, área de concentração em Gastroenterologia, da Faculdade de Medicina da UFMG, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Medicina.

Orientador: Prof. Alfredo José Afonso Barbosa

Pesquisa realizada no Laboratório de Anatomia Patológica e Medicina Legal (LPDN), Faculdade de Medicina da UFMG, com a colaboração dos Departamentos de Clínica Médica e Aparelho Locomotor, e do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG.

Belo Horizonte

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**REITOR** Prof. Dr. Ronaldo Tadêu Pena**VICE-REITORA** Prof. Dra. Heloísa Murgel Starling**PRÓ-REITORIA DA PÓS-GRADUAÇÃO****PRÓ-REITOR** Prof. Dr. Jaime Arturo Ramírez**FACULDADE DE MEDICINA****DIRETOR** Prof. Dr. Francisco José Penna**VICE-DIRETOR** Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes**CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO****COORDENADOR** Prof. Dr. Carlos Faria Santos Amaral**CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GASTROENTEROLOGIA****COLEGIADO**

Prof. Dr. Luiz Gonzaga Vaz Coelho - Coordenador

Prof^a Dra. Cláudia Alves CoutoProf^a Dra. Teresa Cristina de Abreu FerrariProf^a Dra. Luciana Dias Moretzsohn**REPRESENTANTE DISCENTE**

Luiz Fernando Veloso

AGRADECIMENTOS

Profs. Aloísio Sales da Cunha, Luiz de Paula Castro e Luiz Gonzaga Vaz Coelho pelo contínuo apoio à nossa linha de pesquisa.

Dras. Cláudia Maria de Castro Mendes e Luciana Dias Moretzsohn pela grande disponibilidade em contribuir com esse estudo,

Colegas do LPDN - Rodolfo Lisboa, Thiago Lisboa, Helen Viana por todo o companheirismo, assistência e amizade,

Acadêmica Ariane Vieira Carvalho pela amizade e ajuda incondicional,

Dra. Carolinne Bahia Rodrigues, pela grande ajuda e partilha na pesquisa,

Dra. Fabiana Alves Nunes, pelos mais de 10 anos de amizade e coleguismo,

Sras. Luciana e Luciene do Instituto Alfa, pela pronta e eficiente colaboração com a busca e coleta de dados,

Sra. Roseli Alves de Oliveira, pela valiosa ajuda pela busca das referências bibliográficas,

Funcionários do Instituto Alfa, do Ambulatório Bias Fortes, do Instituto Hermes Pardini, do Centro de Pós-graduação, que sempre apresentaram imediata disposição em colaborar com o desenvolvimento deste estudo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A todos os pacientes que em algum momento fizeram parte desta linha de pesquisa; ao longo desses anos tiveram paciência e prontidão ao percorrer as etapas do estudo. À luz das condições muitas vezes adversas em que vivemos, mostraram invejável disposição em colaborar de maneira despretenciosa e anônima para o desenvolvimento da ciência.

Ao professor Alfredo José Afonso Barbosa, por sua dedicação à vida de pesquisador.

Às famílias Kakehasi e Saturnino, pela paciência, amor e dedicação.

RESUMO

A gastrite associada ao *Helicobacter pylori* e a gastrite de origem auto-imune são importantes causas de atrofia da mucosa gástrica, e têm sido relacionadas a baixa massa óssea e ao aumento do risco de câncer gástrico. O presente estudo objetiva o estudo histopatológico de duas formas de gastrite crônica, infecciosa e auto-imune, e a correlação com a densidade mineral óssea. **Pacientes e métodos:** Foram estudados 113 pacientes divididos em dois grupos: (1) 81 pacientes assintomáticos ou dispépticos (76 mulheres), média de idade $62,1 \pm 8,4$ anos e, (2) 32 pacientes com gastrite auto-imune (27 mulheres), média de idade $54 \pm 14,7$ anos, submetidos à endoscopia digestiva alta e à densitometria óssea em coluna e fêmur pela absorciometria com raios-X de dupla energia. Fragmentos da mucosa gástrica foram submetidos às colorações pela hematoxilina-eosina e à imuno-histoquímica com anticorpos monoclonais contra células parietais. A atrofia do corpo gástrico foi avaliada pela histologia segundo a classificação de Sydney em quatro graus: ausente, discreta, moderada e acentuada. O diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter pylori* foi feito através da histologia, teste da urease e teste respiratório com carbono marcado (^{13}C). **Resultados:** Para os 113 pacientes considerados em conjunto, quarenta e nove pacientes apresentaram mucosa oxíntica sem atrofia, nove apresentaram atrofia discreta, em 14 a atrofia era moderada, e em 41, acentuada. Nos 81 pacientes do grupo 1, densidade média de células parietais (CP/mm^2) foi 927 ± 185 para os pacientes sem atrofia, 870 ± 180 para aqueles com atrofia leve, 683 ± 151 nos casos de atrofia moderada e 379 ± 345 naqueles com atrofia acentuada ($p < 0,001$). Nos pacientes com gastrite auto-imune a atrofia foi avaliada em moderada em quatro casos e acentuada em 28 casos, sendo que em 22 casos (68,7%) a imuno-histoquímica revelou ausência de células parietais. A média da densidade mineral óssea (g/cm^2) na coluna lombar nos pacientes do grupo 1 foi de $1,011 \pm 0,198$ e no grupo com gastrite auto-imune foi de $1,065 \pm 0,209$ ($p > 0,05$). A média densidade mineral óssea (g/cm^2) no fêmur dos pacientes no grupo 1 foi de $0,908 \pm 0,153$, e no grupo com gastrite auto-imune foi de $0,930 \pm 0,139$ ($p > 0,05$). A prevalência da infecção pelo *H. pylori* no grupo 1 e 2 foi de 51,8% (42/81) e 9,3% (3/32), respectivamente, $p < 0,001$, mas a presença da infecção não se relacionou com alteração na densidade mineral óssea. **Conclusões:** Atrofia da mucosa gástrica oxíntica e a presença do *H. pylori*, observados em associação aos dois diferentes tipos de gastrite crônica aqui estudados, não se constituíram como fatores de risco à diminuição da densidade mineral óssea. A imuno-histoquímica contra células parietais permitiu avaliação objetiva da presença e grau de atrofia da mucosa oxíntica.

ABSTRACT

Background and aims: *Helicobacter pylori* infection and autoimmune gastritis are important causes of gastric mucosa atrophy and both have been related to decreased bone mineral density and to an increased risk for gastric cancer. We studied the histopathological aspects of two forms of chronic gastritis, associated to *Helicobacter pylori* and autoimmune gastritis, and a possible relationship with bone mineral density. **Methods:** A hundred-thirteen patients divided in two groups were studied: (1) 81 dyspeptic or asymptomatic patients (76 women), mean age 62.1 ± 8.4 years and, (2) 32 patients with autoimmune gastritis (27 women), mean age 54 ± 14.7 years submitted to gastroduodenal endoscopy and bone densitometry by dual energy X-ray absorciometry. Tissue samples were submitted to hematoxylin-eosin staining for histopathological study and to immunohistochemistry with antiparietal cell monoclonal antibodies. Body gastric atrophy was evaluated in four degrees according to the updated Sydney system: absent, mild, moderate and severe. *Helicobacter pylori* infection was evaluated by histology, urease test and ^{13}C -urea breath test. **Results:** In the 113 patients, forty-nine patients presented gastric mucosa without atrophy, nine had mild atrophy, 14 had moderate atrophy, and in 41 the atrophy was severe. In group 1 patients, parietal cell density (CP/mm^2) was 927 ± 185 for patients without atrophy, 870 ± 180 for those with mild atrophy, 683 ± 151 for moderate atrophy, and 379 ± 345 for patients with severe atrophy ($p < 0.001$). In the autoimmune gastritis group gastric mucosa atrophy was moderate in four cases and severe in 28 cases, and by immunohistochemistry, parietal cells showed to be absent in 22 cases (68.7%). Mean lumbar spine mineral density (g/cm^2) was 1.011 ± 0.198 in group 1 and 1.065 ± 0.209 for autoimmune gastritis patients ($p > 0.05$). Mean hip mineral density in group 1 and in autoimmune gastritis group was 0.908 ± 0.153 and 0.930 ± 0.139 , respectively ($p > 0.05$). *Helicobacter pylori* prevalence was 51.8% (42/81) and 9.3% (3/32), in groups 1 and 2, respectively, $p < 0.0001$, but bone mineral densities were not different in patients with or without *Helicobacter pylori* infection ($p > 0.05$). **Conclusions:** Gastric mucosa atrophy and the presence of *H. pylori* could not be considered risk factors for decreased bone mineral density. Immunohistochemistry with antiparietal cell monoclonal antibody allowed an objective study of the presence of gastric mucosa atrophy and identification of its different degrees.

SUMÁRIO

1. Introdução	13
2. Histofisiologia da mucosa gástrica	16
3. Gastrite do origem auto-imune	20
4. Gastrite crônica de origem infecciosa	23
5. Atrofia da mucosa gástrica e densidade mineral óssea	27
6. Pacientes e métodos	49
6.1 Pacientes	49
6.2 Avaliação laboratorial	51
6.3 Endoscopia digestiva alta	52
6.4 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica	53
6.5 Avaliação da população de células parietais da mucosa gástrica	54
6.6 Avaliação da densidade mineral óssea	55
6.7 Avaliação da infecção pelo <i>Helicobacter pylori</i>	56
7. Análise estatística	56
8. Resultados	56
8.1 Pacientes	56
8.2 Avaliação laboratorial	58
8.3 Endoscopia digestiva alta	61
8.4 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica	61
8.5 Avaliação da infecção pelo <i>Helicobacter pylori</i>	64
8.6 Avaliação da população de células parietais da mucosa gástrica	65
8.7 Avaliação da densidade mineral óssea e correlação com gastrite auto-imune e com a densidade de células parietais	68
9. Discussão	74
10. Conclusões	85
11. Referências bibliográficas	87
12. Anexos	106
12.1 Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa ETIC 173/00	106
12.2 Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa ETIC 479/04	106
12.3 Declaração de Aprovação da Defesa da Tese	106
12.4 Ata da Reunião da Defesa da Tese	106

LISTA DE ABREVIATURAS

APUD	<i>Amine Precursor Uptake and Decarboxilation</i>
α	Alfa
$\text{CaCO}_3 + 2 \text{HCl} \rightarrow \text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$	
CP	Células parietais
Células D	Células produtoras de somatostatina
Células EC	Células enterocromafins
Células ECL	Células <i>enterochromaffin-like</i>
Células G	Células produtoras de gastrina
DP	Desvio-padrão
DII	Doença inflamatória intestinal
γ	Gama
HE	Hematoxilina-Eosina
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de massa corporal
LPDN	Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina
M	Molar
mm	Milímetros
mm^2	Milímetros quadrados
mL	Mililitros
mg	Miligramas
mg%	Miligramas por cento
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS-BSA	Tampão fosfato com 0,1% de albumina bovina
pg	Picogramas
PTH	Paratormônio
SAME	Serviço de Arquivo Médico
TNF	Fator de necrose tumoral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCM	Volume corpuscular médio
μm	Micrômetro

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

FIGURA 1. Divisão topográfica das regiões anatômicas da mucosa gástrica e estrutura histológica da mucosa oxíntica normal (detalhe).

FIGURA 2. Seqüência das alterações histopatológicas da mucosa gástrica e dos fatores relacionados ao desenvolvimento do adenocarcinoma gástrico proposta por Pelayo Correa, 1992.

FIGURA 3. Esquema do método de contagem das células marcadas com o anticorpo específico utilizando ocular reticulada movida perpendicularmente da partir da base da mucosa ao epitélio superficial.

FIGURA 4. Mucosa gástrica oxíntica mostrando atrofia glandular acentuada, paciente com gastrite auto-imune. HE, 50X.

FIGURA 5. Células parietais da mucosa gástrica oxíntica. Imuno-histoquímica, 50X

FIGURA 6. Densitometria óssea mostrando osteoporose da coluna lombar (T-escore L1-L4: -3,6) em paciente feminino de 64 anos de idade, grupo 1.

GRÁFICO 1. Gráfico-caixa (*boxplot*) da densidade de células parietais (CP/mm²) da mucosa oxíntica dos 81 pacientes do grupo 1, divididos conforme a presença e o grau de atrofia segundo a classificação revisada de Sydney para estudo das gastrites.

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1. Valores de referência para pepsinogênio sérico, relação PGI/PGII, e sensibilidade e especificidade dos testes utilizados em estudos sobre a relação da atrofia gástrica com gastrite atrófica ou risco para câncer gástrico.
- TABELA 2. Características clínicas dos 113 pacientes do presente estudo divididos segunda a ausência (Grupo 1) ou presença (Grupo 2) de gastrite auto-imune.
- TABELA 3. Resultados laboratoriais dos 113 pacientes do estudo, divididos segundo a ausência (Grupo 1) ou presença (Grupo 2) de gastrite auto-imune, valores expressos em mediana.
- TABELA 4. Diagnósticos histopatológicos da mucosa gástrica em 81 pacientes do grupo 1 segundo a Classificação de Sydney para o estudo das gastrites.
- TABELA 5. Presença e grau de atrofia da mucosa gástrica oxíntica em 81 pacientes do grupo 1 ao diagnóstico em preparações pela hematoxilina-eosina, de acordo com a classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites.
- TABELA 6. Presença de metaplasia intestinal nos 81 pacientes do grupo 1 de acordo com o diagnóstico de atrofia da mucosa gástrica oxíntica pela classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites em preparações pela hematoxilina-eosina.
- TABELA 7. Presença de metaplasia intestinal e metaplasia pseudo-antral na mucosa gástrica dos pacientes dos grupos 1 e 2 em preparações coradas pela hematoxilina-eosina.
- TABELA 8. Prevalência da infecção pelo *H. pylori* nos 113 pacientes do estudo, divididos segundo ausência (Grupo 1) ou presença (Grupo 2) de gastrite auto-imune.
- TABELA 9. Prevalência de atrofia da mucosa oxíntica ao estudo histopatológico definida de acordo com a classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites segundo a infecção pelo *H. pylori* nos 81 pacientes do grupo 1.

TABELA 10. Níveis séricos (média $\pm$ DP) de marcadores do metabolismo ósseo nos 113 pacientes do estudo, segundo infecção pelo *H. pylori*.

TABELA 11. Densidade de células parietais na mucosa oxíntica em 81 pacientes do grupo 1 segundo o diagnóstico histopatológico de atrofia da mucosa gástrica oxíntica pela classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites.

TABELA 12. Diagnósticos densitométricos em coluna lombar e fêmur pela absorciometria de raios-x de dupla energia para os 113 pacientes do estudo.

TABELA 13. Diagnósticos densitométricos em coluna lombar pela absorciometria de raios-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência (Grupo 1) ou presença de gastrite auto-imune (Grupo 2).

TABELA 14. Diagnósticos densitométricos em fêmur pela absorciometria de raios-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência (Grupo 1) ou presença de gastrite auto-imune (Grupo 2).

TABELA 15. Medidas da densitometria óssea (média $\pm$ DP) de coluna lombar e fêmur proximal pela absorciometria de raios-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo ausência (Grupo 1) e presença de gastrite auto-imune (Grupo 2).

TABELA 16. Medidas da densitometria óssea (média $\pm$ DP) de coluna lombar e fêmur proximal pela absorciometria de raios-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência ou presença de infecção pelo *H. pylori*.

TABELA 17. Medidas da densitometria óssea (g/cm^2 , média $\pm$ DP) de coluna lombar e fêmur proximal pela absorciometria de raio-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência e grau de atrofia da mucosa gástrica oxíntica.

TABELA 18. Valores obtidos pela análise de Correlação de Spearman para averiguação de correlação entre densidade mineral óssea (DMO) da coluna lombar, e variáveis clínicas e laboratoriais dos 113 pacientes do presente estudo.

1. INTRODUÇÃO

A osteoporose, consequência da perda progressiva de massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com consequente aumento do risco de fraturas, é a doença osteometabólica mais comum, observada em mulheres na pós-menopausa e, com o avançar da idade, freqüente também em homens (OSTEOPOROSIS, 2001). A deficiência estrogênica do período do climatério é o principal fator para o aumento da perda óssea após a menopausa, mas outras condições também se relacionam negativamente ao metabolismo ósseo, como doenças do trato gastrointestinal. A relação entre o estômago e o metabolismo ósseo foi descrita décadas atrás quando, através de dados epidemiológicos e estudos experimentais, observou-se o desenvolvimento de osteoporose após a retirada cirúrgica do estômago (EDDY, 1971; HEISKANEN, 2001; PERSSON, 1989).

Foi observado que pacientes com anemia perniciosa apresentam menor densidade mineral óssea em coluna vertebral e fêmur, e maior incidência de fraturas ósseas em punho e vértebras (EASTELL *et al*, 1992; GROERSS *et al*, 1992). Adicionalmente, inicia-se o estudo de possível relação entre a infecção pelo *Helicobacter pylori*, metabolismo ósseo e densidade mineral óssea, embora ainda sejam poucos os estudos nessa área (FIGURA *et al.*, 2005; OZDEM *et al.*, 2007).

Na gastrite auto-imune o mecanismo fisiopatológico envolve a presença de auto-anticorpos direcionados contra a H^+/K^+ -ATPase na membrana apical das células parietais ou contra o fator intrínseco (TOH *et al.*, 1997). Como resultado, ocorre atrofia progressiva do componente glandular da mucosa gástrica oxíntica, com consequente acloridria, hipergastrinemia e deficiência de fator intrínseco e pepsinogênio I. Na ausência de fator intrínseco, desenvolve-se deficiência de vitamina B₁₂, que pode manifestar-se através de distúrbios nos sistemas hematopoiético e neurológico. Resultados de estudos *in vitro* evidenciam ação direta da vitamina B₁₂ estimulando osteoblastos e células de linhagem osteoblástica, o que poderia indicar um mecanismo pelo qual a anemia perniciosa se associa à diminuição da densidade mineral óssea (STONE *et al.*, 2004; TUCKER *et al.*, 2005).

Em relação à infecção pelo *Helicobacter pylori*, alterações inflamatórias locais e sistêmicas resultantes da presença da bactéria na mucosa gástrica poderiam influenciar negativamente a remodelação óssea, levando à diminuição da massa óssea (ANDERSON *et al.*, 1997; HSU *et al.*, 1999).

Pertencendo à linha de pesquisa sobre a relação entre a mucosa gástrica e densidade mineral óssea, estudo que antecedeu a este realizado no Laboratório de Patologia Digestiva e

Neuroendócrina avaliou a densidade de células parietais em 50 mulheres na pós-menopausa, com e sem osteoporose. Os resultados mostraram que mulheres com baixa massa óssea apresentavam mucosa gástrica melhor preservada em relação àquelas com osteoporose e a prevalência de infecção pelo *H. pylori* não foi estatisticamente diferentes entre esses dois grupos de mulheres (KAKEHASI *et al.*, 2007). Não conhecemos até o momento, outros trabalhos que tenham estudado, especificamente, a relação entre atrofia da mucosa gástrica e osteoporose.

Ainda assim, os mecanismos da associação entre estômago e metabolismo ósseo não estão totalmente esclarecidos. Nos casos de gastrite multifocal de origem infecciosa, cujo principal agente etiológico é o *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), e da gastrite de origem auto-imune, pode-se dizer que são as duas maiores causas de gastrite crônica que acometem a mucosa oxíntica. Como ambas podem evoluir com atrofia da mucosa gástrica em graus acentuados constituem entidades patológicas de relevância no estudo de possível influência de alterações da mucosa gástrica sobre o metabolismo ósseo.

A atrofia da mucosa gástrica, definida como perda de tecido glandular especializado, tem merecido atenção devido à estreita relação etiológica que se admite existir com o câncer gástrico do tipo intestinal (SIPPONEN *et al.*, 1985; BRINTON, 1989; HSING *et al.*, 1993; EL-ZIMAITY *et al.*, 2002; WATABE *et al.*, 2005). Representa alteração histopatológica distinta da metaplasia intestinal e, embora sejam ambas consideradas etapas do processo evolutivo que culmina com o aparecimento do câncer gástrico, a atrofia gástrica parece relacionar-se à neoplasia do estômago de maneira mais consistente (NAYLOR *et al.*, 2006; TAKE *et al.*, 2007). Apesar disso, não há uniformidade no reconhecimento e graduação histológica da atrofia da mucosa gástrica entre os patologistas por ser o diagnóstico baseado em análises subjetivas (EL-ZIMAITY *et al.*, 1996; GUARNER *et al.*, 1999). Resulta disso dificuldade no estudo das relações entre atrofia da mucosa gástrica, infecção pelo *H. pylori* e carcinogênese gástrica. À diminuição das células parietais na mucosa do corpo gástrico admite-se corresponder estado de hipo-secreção ácida e de fatores de sinalização de crescimento e diferenciação, favorecendo a proliferação de células pouco diferenciadas possivelmente relacionados ao desenvolvimento da neoplasia (SHIOTANI *et al.*, 2005; CORREA *et al.*, 2007). Como a atrofia da mucosa gástrica é considerada fator de risco para o desenvolvimento da doença neoplásica, o estudo da população de células parietais por métodos objetivos de mensuração pode constituir-se em ferramenta auxiliar importante na avaliação mais acurada da perda do componente glandular.

Utilizada para descrever aspectos histopatológicos das gastrites, a classificação de Sydney apresenta boa reprodutibilidade para os critérios de inflamação e metaplasia (DIXON *et al.*, 1996). Porém, observa-se expressiva variação inter-observador no que concerne à avaliação da atrofia gástrica, uma vez que, ao contrário da inflamação e da metaplasia, esse aspecto não dispõe de critérios consensuais para sua determinação e quantificação. Devido às limitações do emprego da classificação de Sydney revisada no que se refere ao estudo da atrofia gástrica, diferentes alternativas para a quantificação morfológica de atrofia glandular gástrica têm sido propostas, ainda com resultados inconsistentes. A mensuração dos níveis de pepsinogênio I e II, método não-invasivo para a pesquisa indireta de atrofia gástrica, é utilizada largamente no programa de rastreamento de câncer gástrico no Japão, mas não existe até o momento consenso sobre os valores de referência ou validação para seu emprego em outros países (DINIS-RIBEIRO *et al.*, 2004). Assim, o desenvolvimento de método de quantificação objetiva do número de células parietais poderia auxiliar na validação dos níveis de pepsinogênio a serem usados como marcador de atrofia gástrica em pacientes sob risco de desenvolvimento de neoplasia gástrica em diferentes populações.

Desse modo, temos por objetivos estudar os principais tipos de gastrite crônica, auto-imune e associada ao *Helicobacter pylori*, avaliar o grau de atrofia glandular da mucosa oxíntica nestas entidades patológicas, e correlacionar os achados com a densidade mineral óssea dos pacientes. Para a avaliação objetiva do grau de atrofia da mucosa oxíntica planejamos utilizar anticorpos monoclonais direcionados especificamente contra os canalículos secretores das células parietais, e assim obter dados mais exatos de sua densidade.

2. HISTOFISIOLOGIA DA MUCOSA GÁSTRICA

A mucosa gástrica humana pode ser dividida em três regiões e tipos histológicos diferentes: a mucosa cárdica, restrita à zona proximal, próxima da abertura do esôfago e de função ainda desconhecida, a mucosa oxíntica (fúndica ou do corpo), a mais extensa e rica em células parietais responsáveis pela secreção de ácido, e a mucosa antral ou pilórica na região distal do órgão, caracterizada pela presença de glândulas mucosas.

A estreita mucosa da região cárdica do estômago apresenta variações em seu padrão histológico entre diferentes indivíduos e mesmo entre diferentes regiões amostradas para exame. Possui glândulas mucosas, tipo antrais, freqüentemente com presença de numerosas células parietais ou mesmo apenas glândulas do tipo oxíntica.

As células da mucosa gástrica se organizam em formações glandulares, predominantemente na mucosa oxíntica, com fovéolas mucosas curtas e constituídas por células que secretam produtos de pH neutro ou fracamente acidófilo, o mesmo acontecendo com o epitélio mucoso de revestimento. Os tipos celulares compõem a mucosa gástrica oxíntica são o epitélio superficial, as células mucosas, as células principais, e as células parietais (FIGURA 1). Essas últimas apresentam características estruturais típicas, principalmente pela riqueza de mitocôndrias e de canalículos secretores, estes responsáveis pela produção do fator intrínseco e de íons H^+ que, secretados na luz do estômago, participam dos mecanismos digestórios locais. As células parietais são cúbicas ou cilíndricas baixas, apresentam núcleo em posição central, e citoplasma que se cora em vermelho intenso pela Hematoxilina-Eosina (HE). Seus canalículos secretores são canais que permitem a passagem do ácido clorídrico para o lúmen gástrico por transporte ativo. As células parietais se distribuem ao longo da espessura de toda a mucosa do corpo e fundo do estômago do homem, concentrando-se mais no terço médio e sendo mais rarefeitas na base da mucosa. Nesta última região localizam-se as células responsáveis pela secreção dos pepsinogênios, chamadas de células zimogênicas ou principais, de citoplasma mais basófilo quando coradas pelo HE.

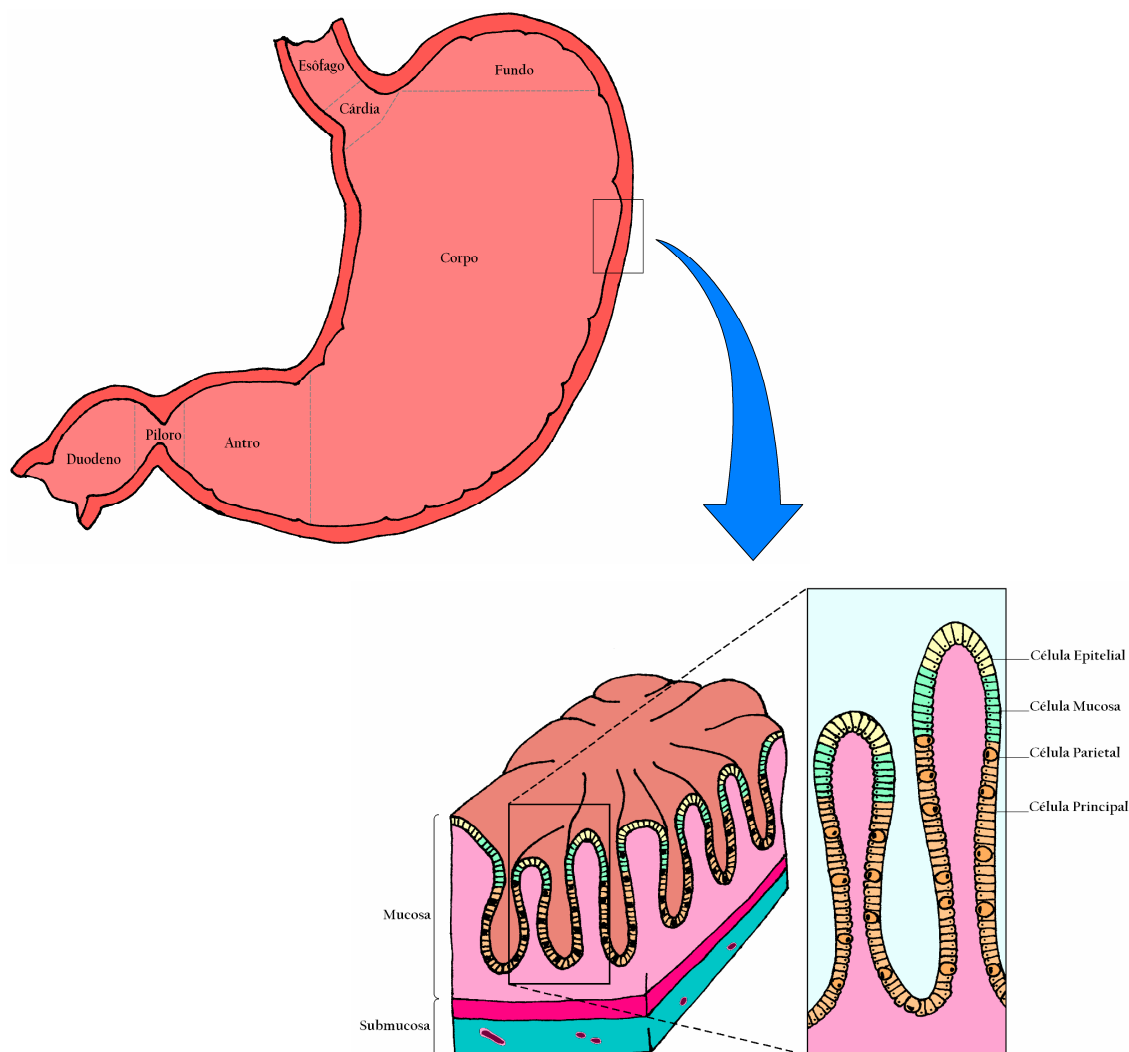


FIGURA 1. Divisão topográfica das regiões anatômicas da mucosa gástrica e estrutura histológica da mucosa oxíntica normal (detalhe).

A mucosa gástrica, do mesmo modo como a mucosa intestinal, é sede de numerosas células endócrinas, principalmente na região das glândulas oxínticas. No final da década de 1960, com o isolamento dos primeiros hormônios gastrintestinais e a produção de anticorpos contra os mesmos, iniciou-se a utilização e aperfeiçoamento de métodos imunocitoquímicos para a identificação dos diferentes hormônios nos tipos específicos de células endócrinas. Pearse verificou, estudando essas células, que elas eram capazes de descarboxilar o L-5-hidroxitriptofano e o L-diidroxifenilalanina em suas respectivas aminas, a serotonina e a dopamina, graças à enzima L-aminoácido descarboxilase, e passou a agrupá-las dentro de um grupo denominado Amine Precursor Uptake and Decarboxilation (APUD) (PEARSE, 1966).

Entre os mamíferos, as células endócrinas do sistema digestivo estão distribuídas ao longo da mucosa gastrintestinal, no pâncreas e vias biliares. As células endócrinas mais bem conhecidas são as antrais, com papéis relativamente bem definidos, e facilmente identificadas através de anticorpos específicos. As células da mucosa cárdica têm sido pouco estudadas e, dados recentes, têm demonstrado que a maioria delas ou mesmo a única, são constituídas pelas células endócrinas enterocromafim (EC), produtoras de serotonina (VOUTILAINEN *et al*, 2002). Na mucosa oxíntica não conhecemos bem todos os tipos celulares endócrinos nem o papel que cada uma desempenha na homeostase gástrica. O elemento predominante é a chamada célula *Enterochromaffin-like* (ECL), que não mantém contato com a luz glandular, ou seja, é fechada, muito sensível a gastrina, respondendo num primeiro momento através do aumento da atividade da enzima formadora de histamina, a histidina decarboxilase e, num segundo tempo, com hiperplasia celular (HAKANSON, 1971). A histamina, provavelmente o mais importante estimulador da secreção ácida entre os mamíferos, provém de duas fontes na mucosa do corpo gástrico, das células ECL e dos mastócitos.

A análise ultraestrutural, quantitativa e qualitativa da mucosa oxíntica humana, através da microscopia eletrônica, mostra população mais heterogênea de células endócrinas, classificadas de acordo com seus grânulos de secreção. As células ECL são as mais freqüentemente encontradas (30 a 40%), seguidas pelas células P (20 a 30%) e depois as células D (20 a 25%). As células P possuem grânulos de secreção semelhantes aqueles do epitélio respiratório, não apresentam produto conhecido, e identificadas apenas pela microscopia eletrônica.

Na mucosa antral ocorrem três tipos de células endócrinas, que podem ser caracterizadas morfológicamente à microscopia eletrônica ou pela imunocitoquímica; são as células G (60% do total), produtoras de gastrina, as células D, produtoras de somatostatina e as células EC, que produzem serotonina.

Três mecanismos principais controlam a secreção ácida gástrica. A acetilcolina, liberada pelas terminações do nervo vago, estimula a secreção ácida das células parietais. A elevação do pH e a presença de conteúdo protéico alimentar no lúmen do estômago estimulam a secreção de gastrina, que por sua vez, leva à secreção de ácido clórdrico pelas células parietais e a proliferação dos componentes exócrinos e endócrinos da mucosa do corpo gástrico. O terceiro mecanismo consiste na liberação de histamina pelas células ECL, que também estimula as células parietais e leva à secreção ácida. Nas células parietais a ativação da ação da bomba de prótons $H^+K^+ATPase$ proporciona a troca dos íons K^+ por H^+ , com conseqüente liberação do hidrogênio para o lúmen gástrico. A $H^+K^+ATPase$ é um

heterodímero que apresenta duas subunidades, alfa e beta, localizadas nas faces interna e externa da membrana celular, respectivamente. Com a diminuição do pH ocasionado pela secreção de ácido pelas células parietais, o pepsinogênio I é convertido à pepsina, por autocatálise. O pepsinogênio I é a isoforma mais abundante das sete formas de pepsinogênio e produzido exclusivamente pelas células principais e mucosas do corpo gástrico. Outra forma secretada na mucosa oxíntica, mas não de forma exclusiva, é o pepsinogênio II, produzido também pelas células mucosas da região cárdica, glândulas pilóricas e glândulas de Brunner na mucosa duodenal (SAMLOFF, 1982). Por outro lado, quando a capacidade de tamponamento da acidez pelo conteúdo alimentar é excedida, e o pH cai abaixo de três, as células D antrais são estimuladas a produzir e secretar somatostatina, peptídeo inibidor da secreção de gastrina e histamina.

A atividade secretora das células parietais para o lúmen gástrico torna a concentração de H^+ intraluminal cerca de três milhões de vezes maior do que em qualquer outro fluido corporal. A barreira mucosa protege o estômago da auto-digestão através da presença da camada de muco superficial, secreção de bicarbonato pelas células epiteliais, junções celulares epiteliais, e pela rica rede capilar mucosa que assegura o acesso de nutrientes, oxigênio e bicarbonato às células epiteliais gástricas.

3. GASTRITE DE ORIGEM AUTO-IMUNE

Lesões gástricas são causas freqüentes de doença clínica. Apesar disso, o termo gastrite tem sido muitas vezes empregado de maneira equivocada. Gastrite crônica é definida como a presença de alterações inflamatórias crônicas na mucosa gástrica, eventualmente levando à atrofia e metaplasia, na ausência de erosões (CRAWFORD, 1999). Tem etiologia e características anátomo-patológicas bastante diversas.

A gastrite atrófica de origem auto-imune é uma das principais causas de gastrite crônica, respondendo por cerca de 3 a 4% do total de casos de gastrite crônica (EIDIT, 1996; POTET, 1993). Caracteriza-se por um longo período pré-clínico, quando podem estar presentes somente os marcadores imunológicos (auto-anticorpos), não sendo, portanto, freqüente o diagnóstico precoce (DAVIDSON, 2001). Consiste numa doença auto-imune órgão-específica de etiologia multifatorial, compreendendo fatores genéticos e imunológicos e, também possivelmente, fatores ambientais. Sabe-se que 20-30% dos parentes de primeiro grau de adultos com anemia perniciosa têm gastrite auto-imune ou apresentam auto-anticorpos para outras doenças auto-imunes (GLEESON *et al.*, 1991). Anticorpos direcionados contra as células parietais estão associados com a gastrite de origem auto-imune uma vez demonstrado que as sub-unidades α e β da bomba de prótons da enzima $H^+/K^+-ATPase$ são os alvos antigênicos desses anticorpos (GLEESON *et al.*, 1991). A prevalência desses auto-anticorpos na população geral é de 3-10%, enquanto a positividade em pacientes com gastrite auto-imune e anemia perniciosa está em torno de 90 e 30-60%, respectivamente (BURMAN, 1991; CARMEL, 1992; KORSTANJE, 2006). Também relacionados à gastrite auto-imune, os anticorpos direcionados contra o fator intrínseco bloqueiam o sítio de combinação da vitamina B_{12} e, embora sejam mais específicos, ocorrem com menor freqüência (ZITTOUN, 2001). Embora fatores ambientais não estejam relacionados de forma consistente com a gastrite auto-imune, a evidência de que o *H. pylori* possa exercer papel na indução e manutenção do processo auto-imune começa a ser mais bem estudada (PRESOTTO, 2003; KORSTANJE, 2006). Além da demonstração da existência de mímica molecular entre o *H. pylori* e a bomba de prótons $H^+/K^+-ATPase$, a identificação de nove diferentes proteínas da bactéria que reagem com os epítomos da bomba protônica já instalados à nível dos linfócitos T reativos sugere que o *H. pylori* possa contribuir adicionalmente para a destruição das células parietais através da liberação de $IFN-\gamma$ pelos linfócitos T (D'ÉLIOS *et al.*, 2004).

As alterações histopatológicas da gastrite auto-imune se restringem ou são mais conspícuas no corpo gástrico, caracterizando-se por infiltrado mononuclear na camada

mucosa e atrofia glandular. Esse processo patológico evolui progressivamente, e pode ser didaticamente dividido em três estágios: precoce, florido e final (CAPELLA *et al.*, 1999). O infiltrado mononuclear inclui células plasmáticas e linfócitos T ocupando toda a extensão da lâmina própria da mucosa e acompanham a degeneração e depleção parcial das glândulas acidopépticas na região média da mucosa. As células parietais remanescentes mostram citoplasma abundante num estado chamado de pseudo-hipertrofia reacional causado pela hipergastrinemia, e há hiperplasia das células mucosas, chamada metaplasia pseudo-antral (TORBENSON *et al.*, 2002). Na fase florida da gastrite auto-imune, o infiltrado mononuclear está distribuído difusamente e de forma mais compacta, ilhas isoladas de glândulas com poucas células parietais e principais são vistas, e há substituição destes componentes por células mucosas e do tipo intestinal (metaplasia intestinal). Em consequência do déficit na produção ácida pela mucosa gástrica atrofica há aumento do pH intraluminal e hiperplasia reacional das células G antrais. Como resultado, a hipergastrinemia exerce estímulo constante às células endócrinas que por sua vez, também se tornam hiperplasiadas. Esse efeito trófico da gastrina sobre as células endócrinas parece ser o principal fator responsável pela maior incidência de tumores carcinóides em pacientes com anemia perniciosa (HSING *et al.*, 1993). Na fase final a espessura da mucosa é diminuta, podem ser encontrados pólipos hiperplásicos, e as células parietais e principais podem estar ausentes. Da mesma forma, o infiltrado inflamatório está minimamente presente ou ausente.

O diagnóstico histopatológico da gastrite auto-imune nas fases mais avançadas de atrofia glandular não apresenta dificuldades, mas pode ser menos sugestivo quando ainda não há escassez acentuada de células parietais. Além disto, nenhum dos aspectos histopatológicos considerados isoladamente são suficientes para o diagnóstico. O estudo de TORBENSON *et al.* (2002) que descreve aspectos histopatológicos da gastrite auto-imune em 40 casos mostrou que todos os casos confirmados sorologicamente pela presença de auto-anticorpos apresentavam hipertrofia de células ECL vista através da coloração pela cromogranina, tendo sido classificada em linear ou nodular. Hipertrofia de células parietais remanescentes e metaplasia intestinal ou pseudo-antral estiveram presentes em 85% e 65% dos casos.

A principal consequência evolutiva da gastrite auto-imune é a anemia perniciosa, embora atualmente dê-se preferência à denominação Doença de Biermer, uma vez que o diagnóstico pode ser feito na ausência de anemia, ou dentro do contexto de outras manifestações auto-imunes (ZITTOUN, 2001). A diminuição da massa glandular da mucosa oxíntica leva à deficiência de fator intrínseco, cuja consequência em longo prazo no último caso é a eritropoese megaloblástica. O longo período de latência, de até vinte a trinta anos,

ocorre porque a reserva hepática de vitamina B₁₂, que é de 2.000 a 5.000 mcg, pode demorar até dez anos para ser totalmente depletada caso nenhuma vitamina B₁₂ esteja sendo absorvida (TOH *et al.*, 1997). Assim, estima-se que 10% dos pacientes com gastrite auto-imune desenvolvam anemia perniciosa ao longo da vida. Existem outras causas de deficiência de vitamina B₁₂ e, portanto, a definição de anemia perniciosa inclui a demonstração da presença de maturação ineficaz na medula óssea (megaloblástica) decorrente da deficiência de vitamina B₁₂ exclusivamente por falta de fator intrínseco (MARKLE, 1996).

A cobalamina atua como cofator para a síntese de DNA e metilação das bainhas de mielina nervosa. É ainda responsável pela conversão do ácido metilmalônico em ácido succínico, quando serve de co-fator para a enzima adenosil-mutase. Como consequência de sua ausência, as células não se dividem em taxas normais e a cromatina permanece no interior de células gigantes, processo que culmina com anemia megaloblástica. Já o defeito na mielinização e a possível toxicidade pelo acúmulo de ácido metilmalônico levam a sintomas neurossensoriais de parestesia, arreflexia tendinosa, distúrbios de sensibilidade profunda e ataxia. Queixas psíquicas, como distúrbio de memória e depressão, podem chegar a quadro demencial grave, nem sempre reversível. O tratamento é a reposição parenteral de hidroxicobalamina na dose um miligrama por semana, durante duas semanas, seguida da mesma dose a cada trinta dias, por tempo indeterminado.

A anemia perniciosa associa-se a outras doenças auto-imunes e tem sido relacionada à diminuição da densidade mineral óssea, ao aumento do risco de fraturas ósseas, e é considerada fator de risco para adenocarcinoma gástrico (BRINTON, 1989; EASTELL *et al.*, 1992; GROERSS *et al.*, 1992; HSING *et al.*, 1993; TOH *et al.*, 1997; CAPELLA *et al.*, 1999; CHAN *et al.*, 2006). Em relação a essa última associação, um estudo preconiza que pacientes com anemia perniciosa sejam submetidos à avaliação endoscópica periodicamente (SJOBLOM *et al.*, 1993).

Além da anemia macrocítica por deficiência de vitamina B₁₂, estima-se que expressiva porcentagem de pacientes com anemia ferropriva sem queixas gastrointestinais tenha a gastrite atrófica do corpo como causa etiológica para a anemia (ANNIBALE *et al.*, 2001). O mecanismo para essa relação causal seria a impossibilidade de mobilização do ferro alimentar em ambiente gástrico com pH elevado, em decorrência da acloridria resultante da atrofia da mucosa gástrica oxíntica.

4. GASTRITE CRÔNICA DE ORIGEM INFECCIOSA

O *H. pylori* infecta aproximadamente metade da população mundial e associa-se a inúmeras afecções, como a gastrite crônica, a úlcera péptica e o câncer gástrico (ZATERKA *et al.*, 2007). Trata-se de bacilo gram negativo descrito por MARSHALL e WARREN (1983) e encontrado exclusivamente na mucosa gástrica, cuja presença está universalmente associada a achados histológicos de gastrite, mais intensa na região do antro. As alterações da mucosa gástrica podem, com o passar do tempo, atingir o corpo gástrico, resultando em redução da secreção ácida e, eventualmente, diminuição da população de glândulas da mucosa gástrica (CRAWFORD, 1999). De acordo com essas possibilidades evolutivas a infecção pelo *H. pylori* pode apresentar dois desfechos diferentes, tanto do ponto de vista clínico quanto histopatológico: o acometimento predominantemente antral relacionado à ocorrência de úlcera péptica duodenal (VALLE *et al.*, 1996), e a gastrite multifocal, principal causa mundial de gastrite crônica atrófica e que se associa com o câncer gástrico (NAYLOR *et al.*, 2006). Existem outros agentes infecciosos relacionados à inflamação crônica da mucosa gástrica e neste trabalho a designação gastrite infecciosa será referência à gastrite crônica associada ao *H. pylori*.

Apenas 10 a 20% dos indivíduos infectados desenvolvem doença clinicamente expressiva e o desfecho clínico final da infecção pelo *H. pylori* é resultado da complexa interação entre o hospedeiro e a bactéria (FOX *et al.*, 2007). Inicialmente, a sobrevivência da bactéria num ambiente hostil a outros microrganismos é possível graças à presença de flagelo e à capacidade de produzir urease, enzima que converte a uréia em amônia, cuja consequência é a neutralização do ácido gástrico. A aderência da bactéria ao epitélio gástrico através das proteínas já identificadas BabA, SabA, OipA, AlpA, e AlpB, têm a finalidade de facilitar o acesso a nutrientes e possibilitar a translocação de proteínas efetoras, sendo considerada crucial para a evolução do processo patogênico (MAEDA, 2007). Sabe-se, por exemplo, que a presença da proteína SabA (sialic acid-binding adhesin) facilita a aderência do *H. pylori* ao epitélio gástrico, relacionando-se positivamente com o câncer gástrico e negativamente com a doença péptica ulcerosa (YAMAOKA, 2006).

Dois importantes fatores de patogenicidade estudados são a proteína cagA e a citotoxina vacA. A proteína CagA é um fator de virulência do *H. pylori* assim denominada após a descoberta do gene que a codifica – o “cytotoxin-associated gene A”, o que, de certa forma, está equivocado porque o gene que codifica a citotoxina é o VacA. Ao se mapear o cromossoma do *H. pylori* constatou-se que o cagA está localizado na terminação de um grupo

de 30 diferentes genes adquiridos mais recentemente na evolução da bactéria que passou a ser nomeado ilha de patogenicidade (*pathogenicity island* -PAI) (ATHERTON, 1998). Atualmente sabe-se que esse conjunto genético codifica o sistema de secreção tipo IV, responsável pela capacidade que o *H. pylori* possui de introduzir produtos bacterianos nas células epiteliais gástricas e cujo resultado, em última instância, é a amplificação da resposta inflamatória (WILSON, 2007). Os mecanismos pelos quais a proteína cagA contribui para a patogenicidade do *H. pylori* não estão totalmente esclarecidos, mas sua presença pode relacionar-se à atrofia da mucosa gástrica e ao câncer gástrico, por ser capaz de induzir alterações morfológicas e apoptose das células epiteliais gástricas e linfócitos T (CABRAL *et al.*, 2006; CABRAL *et al.*, 2007; MAEDA, 2007).

Outro fator de virulência, a citotoxina vacA é capaz de causar o descolamento da célula epitelial gástrica e, eventualmente, levar a áreas de micro-ulceração. O gene vacA que codifica a toxina vacuolizante contém pelo menos duas porções variáveis, a região *s* (codifica os peptídeos sinalizadores s1a, s1b, s1c, ou s2) e a região *m* (peptídeos m1 ou m2) (CHAO-CHUAM *et al.*, 2005). O conhecimento desses marcadores genéticos e as possibilidades de associação desses fatores de virulência têm motivado estudos no sentido de se relacionar determinados genótipos de *H. pylori* aos desfechos clínicos finais da infecção, numa tentativa de identificação dos indivíduos com maior risco para doença péptica e neoplásica (YAMAOKA *et al.*, 1999). Entretanto, parece pouco provável no momento que o estudo dos fatores de virulência permita a utilização dessas proteínas de membrana no desenvolvimento de vacinas contra o *H. pylori* (WILSON, 2007).

Esses fatores até aqui relacionados dizem respeito às interações da bactéria com as células epiteliais gástricas, através de seus fatores de virulência. Adicionalmente, o *H. pylori* induz a um novo estado de modulação dos sistemas de defesa inato e adaptativo. No sistema inato o reconhecimento inicial do *H. pylori* se faz através da ligação de estruturas invariáveis da bactéria a diferentes sensores das células apresentadoras de antígenos do hospedeiro, por exemplo, os receptores *Toll-like* (TLR) 2. Os receptores TLR compõem uma família de 11 membros de receptores que se encontram expressos nas células dendríticas e são responsáveis pelo reconhecimento de estruturas que foram conservadas pelos microorganismos durante sua evolução, como o lipopolissacáride e o ácido lipoteicoico. Através da ligação aos receptores TLR2 e TLR4 na membrana das células mononucleares, ocorre ativação de sistemas de sinalização, como o do fator nuclear kappa-beta (NF-KB) e das proteínas cinases ativadoras de mitose (MAPK), do que resulta a determinação do perfil de secreção de citocina por essas células inflamatórias (RAD *et al.*, 2007). No caso da infecção pelo *H. pylori* os macrófagos

do hospedeiro produzem de citocinas inflamatórias, como a IL-1 β e IL-6, fundamentais na patogênese da infecção, incluindo o desenvolvimento de lesões pré-malignas.

Quanto ao sistema imune adaptativo, a relação entre o *H. pylori* e o hospedeiro tem sido estudada em modelos murinos infectados por *Helicobacter* *ssp.* mostrando que a participação das células T é fundamental na resposta do hospedeiro. Como o *H. pylori* é considerado um patógeno não invasor, seria de se esperar resposta adaptativa com padrão Th2 predominante. Ao contrário, em vigência da infecção pelo *H. pylori* há predominância da ativação das células Th1, responsáveis pela produção das citocinas inflamatórias IFN- γ , IL-12, IL-18, IL-17 e TNF- α . Por outro lado, animais com determinação genética para resposta predominante Th2 infectados por *Helicobacter* *ssp.* se mostram resistentes ao desenvolvimento de lesões gástricas graves (FOX *et al.*, 2007). Crescente interesse tem sido direcionado à função das células T reguladoras, denominadas Tregs, na infecção pelo *H. pylori*. Essas células estão associadas ao controle de respostas imunes exacerbadas, como ocorre na sensibilização a alérgenos e nas doenças auto-imunes. Estudos *in vitro* têm mostrado que as Tregs podem suprimir a resposta de células T de memória e permitir a persistência da infecção pelo *H. pylori* (WILSON, 2007).

Assim, do somatório da presença de fatores de virulência do *H. pylori*, da resposta inflamatória do hospedeiro (em última instância inadequada), e dos mecanismos de evasão da bactéria sobre as células do sistema imune, resulta que o organismo infectado não é capaz de exterminar a bactéria, que persiste por longos períodos na mucosa gástrica, sendo capaz de iniciar e perpetuar estado crônico de injúria local.

Na gastrite crônica a lesão é caracterizada por infiltração difusa da mucosa gástrica de linfócitos, células plasmáticas, macrófagos, além de poucos eosinófilos e mastócitos. Descreve-se como ativa na presença de polimorfonucleares nas camadas glandular e epitelial, e podem também estar presentes agregados linfóides na mucosa, alguns com centros germinativos. Esse quadro histopatológico é visto na região do antro gástrico de pacientes com úlcera péptica duodenal. De outra forma, a evolução topográfica da gastrite se faz proximalmente em direção ao fundo gástrico, caracterizando a gastrite multifocal, na qual a persistência do processo inflamatório pode levar ao aparecimento de metaplasia e atrofia (CORREA *et al.*, 2007). No caso da metaplasia a mucosa gástrica é substituída em parte por células absortivas intestinais no compartimento epitelial e também formando estruturas glandulares rudimentares. Em alguns casos, células com características de intestino colônico podem ser vistas. O *H. pylori* pode ser visto de maneira descontínua na camada superficial da

mucosa e entre os microvilos das células epiteliais, mas está ausente em áreas de metaplasia intestinal. Como a extensão das áreas de metaplasia intestinal é maior após longo tempo de evolução da gastrite multifocal, explica-se porque pode ser infrutífera a pesquisa do *H. pylori* em estágios avançados de gastrite atrófica com metaplasia intestinal. A atrofia gástrica é evidenciada pela diminuição ou rarefação do componente glandular, e comumente encontrada em espécimes de biópsias gástrica de exames endoscópicos em indivíduos cronicamente infectados pelo *H. pylori*. Ocorre em paralelo à prevalência e como resultado do longo tempo de infecção pelo *H. pylori*, sendo encontrada em até 60 a 80% dos indivíduos infectados, enquanto em indivíduos não infectados a prevalência de atrofia gástrica está em torno de cinco a 10% (ASAKA *et al.*, 2001). Num estudo japonês em 196 crianças, a presença de inflamação e atrofia foi mais prevalente naquelas infectadas pelo *H. pylori* em relação àquelas não infectadas, tanto na região do corpo gástrico quanto no antro, mostrando que 10% das crianças infectadas com idade entre um e 16 anos já apresentavam sinais de atrofia antral ao exame histológico (KATO *et al.*, 2006).

Posteriormente na evolução da gastrite crônica as células epiteliais podem desenvolver alterações displásicas caracterizadas por mudanças do tamanho e forma, e pela presença de atipias nucleares. Quando o epitélio gástrico mostra displasia grave, mas ainda confinadas à camada epitelial da mucosa, podem ser consideradas com carcinoma *in situ*, o que não é sinônimo de carcinoma precoce, estágio em que as células atípicas já se estenderam até a submucosa, porém se mantêm até esse limite.

Em relação ao efeito da infecção pelo *H. pylori* sobre a secreção ácida gástrica, pode-se dizer que há correspondência com o espectro do acometimento histopatológico na mucosa gástrica (EGAN *et al.*, 2007). Na presença da bactéria o mecanismo de *feedback* negativo exercido pela somatostatina é interrompido, com aumento da secreção ácida gástrica. O constante estímulo ácido na mucosa duodenal é fundamental para o aparecimento da metaplasia gástrica, local correspondente ao das lesões ulcerosas pépticas duodenais. De outra maneira, na gastrite multifocal o processo inflamatório leva à inibição da produção ácida pelas células parietais e, com o desenvolvimento da atrofia da mucosa gástrica, esse estado hipossecrator se torna permanente, cujo resultado é a hipocloridria.

5. ATROFIA DA MUCOSA GÁSTRICA E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA

A atrofia da mucosa gástrica é caracterizada pela diminuição de seu componente glandular, podendo ocorrer de forma difusa ou focal e, dependendo dos fatores etiológicos envolvidos, acometem tanto a mucosa antral quanto a mucosa do corpo, ou apenas uma dessas regiões. As consequências da atrofia acentuada da mucosa gástrica sobre suas funções secretoras são hipo- ou acloridria, ausência de secreção de fator intrínseco e pepsinogênio.

Estudos sobre o efeito do envelhecimento sobre a secreção gástrica são controversos. Em indivíduos idosos as alterações próprias do envelhecimento podem levar à diminuição da massa de células parietais (FARINATI, 1993, FELDMAN, 1996), resultando em diminuição da produção ácida e elevação do pH gástrico, e queda na secreção do pepsinogênio. As consequências clínicas da atrofia senil da mucosa gástrica podem ser importantes no que concerne aos efeitos colaterais de medicamentos, diminuição da resistência a agentes infecciosos e menor biodisponibilidade de nutrientes por prejuízo em sua mobilização das formas complexas nos alimentos (RECKER, 1985).

A gastrite de origem auto-imune e gastrite crônica atrófica associada ao *Helicobacter pylori* são duas importantes entidades patológicas que se apresentam com atrofia da mucosa gástrica. A anemia perniciosa, resultado final da gastrite auto-imune, e a infecção pelo *Helicobacter pylori* têm sido relacionadas à baixa densidade mineral óssea (EASTELL *et al.*, 1992; FIGURA *et al.*, 2005). Como a atrofia da mucosa gástrica é alteração histopatológica comum às duas situações, pode-se admitir possível elo entre a diminuição do componente glandular gástrico e o maior risco de desenvolvimento de osteoporose.

A osteoporose, caracterizada por perda progressiva conteúdo ósseo, diminuição da resistência e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com conseqüente aumento do risco de fraturas (OSTEOPOROSIS, 2001), é a doença óssea mais comum, observada em mulheres na pós-menopausa e, com o avançar da idade, freqüente também em homens. Um aspecto particular da osteoporose é a normalidade da taxa entre os componentes mineral e orgânico da matriz óssea, que a distingue da osteomalácia, doença caracterizada por deficiência relativa da mineralização em relação ao conteúdo colágeno do osso. A conseqüência mais relevante da osteoporose é a ocorrência de fraturas, sendo as mais comuns, as fraturas vertebrais, do punho e do fêmur.

O tecido ósseo é composto pela matriz extracelular, constituída principalmente de fibras colágenas tipo I e cristais de hidroxiapatita, e pelas células responsáveis pela formação

e reabsorção ósseas. As células são de dois tipos, os osteoclastos, de origem hematopoética e responsáveis pela reabsorção óssea, e os osteoblastos, provenientes de células mesenquimais, produtores da matriz óssea. Seja no osso cortical ou trabecular, um processo contínuo de formação acoplado à reabsorção, chamado ciclo de remodelação óssea, garante o equilíbrio na manutenção da massa óssea em indivíduos adultos. Qualquer alteração no sentido de ruptura deste equilíbrio é capaz de resultar em osteoporose.

O diagnóstico de osteoporose é feito através da utilização dos critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS): pacientes são definidos como portadores de osteoporose quando apresentam densidade mineral óssea abaixo de -2,5 desvios-padrão em relação à média observada na população jovem, em medidas pela absorciometria de raio-X de dupla energia (KANIS *et al.*, 1994). Existe uma correlação inversa entre baixa densidade óssea e risco de fraturas, sendo que o risco de fratura vertebral é multiplicado por 2 a cada diminuição de um DP na massa óssea (WASNICH, 1993).

Estima-se que 200 milhões de mulheres tenham osteoporose no mundo, e os custos projetados para o ano de 2020 com essa doença somam algo em torno de 62 bilhões de dólares (NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION, 2002). Não existem dados precisos sobre a prevalência da osteoporose no Brasil. De acordo com dados do último censo (ano 2000), admite-se para o Brasil uma população de 163.275.000 habitantes, dos quais 81 milhões são do sexo feminino. Vinte e seis a trinta milhões de habitantes estão acima dos 50 anos e, desses, 12 milhões têm mais de 60 anos. Considerando em 30% a taxa média relativa à frequência da osteoporose em mulheres após a menopausa (MELTON, 1995), pode-se estimar em cinco milhões o número de pacientes acometidas por essa enfermidade em nosso país. O estudo de COSTA-PAIVA (2001) avaliou retrospectivamente os dados demográficos e densitométricos de 473 mulheres no período pós-menopausa da região Sudeste do país, média de idade de $53,9 \pm 7,1$ anos, encontrando prevalência de osteopenia e osteoporose na coluna lombar foi de 38% e 14,7%, respectivamente. No fêmur, os achados de osteopenia e osteoporose foram de 32,7% e 3,8%, respectivamente. Esses dados mostram elevada prevalência de baixa massa óssea, e indicaram baixa escolaridade, baixo índice de massa corporal (IMC), menopausa precoce, menarca tardia e idade avançada como fatores de risco. Outro estudo realizado na região Sul do país, realizado em 810 pacientes (99,1% de mulheres) com média de idade de $59,1 \pm 10,7$ anos, mostrou prevalência de osteoporose na coluna lombar de 29,9% e no fêmur de 13,9% para o grupo com mais de 50 anos (ZANETTE *et al.*, 2003).

A probabilidade da ocorrência de fratura de quadril para mulheres brancas acima dos 50 anos, durante o tempo restante de vida, é estimado em torno de 17% (NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2001). Estima-se que a prevalência de fraturas vertebrais em mulheres com mais de 50 anos se aproxime dos 30% (MELTON, 1989) e que pelo menos 90% das fraturas de quadril em mulheres idosas possam ser atribuídas à osteoporose (MELTON, 1996). No Brasil, no ano de 1998, as fraturas ósseas associadas à osteoporose atingiram 94.120 fraturas vertebrais, e 37.000 fraturas de punho e fêmur, cada uma delas. Calcula-se que os custos financeiros tenham atingido, somente em relação às fraturas de fêmur, cerca de R\$ 27.300.000,00 (CARNEIRO, 2001). Na região Nordeste, o estudo de SILVEIRA *et al.* (2005) sobre a prevalência de fratura de quadril na cidade de Fortaleza, Ceará, mostrou que a incidência dessa fratura foi maior no sexo feminino, e em pacientes mais idosas, com taxa anual estimada em 27,7 mulheres/10 mil habitantes, menor quando comparada a estudos realizados em outras partes do mundo. A fratura de fêmur apresenta mortalidade de 25% no primeiro ano e 50% das pacientes necessitam de algum tipo de auxílio definitivo após a sua ocorrência, perdendo a independência para as atividades da vida diária (BARRET-CONNOR *et al.*, 1995).

Um dos fatores mais importantes que determinam o aparecimento da osteoporose e explica sua maior prevalência no sexo feminino, é a deficiência estrogênica na pós-menopausa. Este hormônio sexual apresenta efeito antireabsortivo ósseo por diminuir a frequência de ativação dos ciclos de remodelação óssea, e também por diminuir a produção local de citocinas, como as interleucinas 1 e 6, estimuladoras da reabsorção óssea (RIGGS *et al.*, 1998). A perda óssea em mulheres na pós-menopausa e sem terapia de reposição hormonal é mais acentuada nos primeiros cinco a dez anos, atinge preferencialmente o osso trabecular, e pode chegar a 4% ao ano, com uma perda aproximada de 15% em cinco anos (HEANEY, 1996). Mulheres com anorexia nervosa, atletas profissionais, e aquelas ooforectomizadas também estão sujeitas à falência gonadal e, conseqüentemente, à perda óssea acelerada.

Idade e densidade mineral óssea se relacionam de forma estabelecida com osteoporose, por guardarem estreita relação com a incidência de fraturas. Outros fatores de risco se relacionam diretamente com a massa óssea e, conseqüentemente, com maior risco de fraturas. Os fatores de risco podem ser classificados em uma das cinco categorias: idade ou relacionado à idade, genético, ambiental, hormonal ou doenças crônicas e características físicas ósseas (SIRIS *et al.*, 2004). Tabagismo, baixo índice de massa corporal, e história familiar positiva para osteoporose também são fatores de risco para osteoporose, enquanto

alcoolismo, uso de bebidas cafeínadas e sedentarismo na adolescência têm relação inconsistente com a densidade mineral óssea. Doenças que diminuem os níveis de estrógeno ou vitamina D, que prejudicam a absorção cálcio, e também aquelas que determinam processo inflamatório sistêmico, com liberação de citocinas ativadoras dos osteoclastos, podem alterar negativamente a remodelação óssea.

Mais especificamente em relação ao estômago, evidências experimentais e epidemiológicas demonstram existir relação entre a mucosa gástrica e o metabolismo ósseo. Duas importantes linhas de estudo são responsáveis pelo reconhecimento desta relação.

Na primeira delas, em estudos experimentais onde se utilizou o rato como modelo, um grupo sueco de pesquisadores tem demonstrado a presença de um fator endócrino gástrico atuando no metabolismo ósseo (PERSSON *et al.*, 1989). Em verdade, esse esclarecimento teve início na década de 1970, quando se demonstrou que a gastrina e a pentagastrina tinham efeito hipocalcemiante em ratos e suínos (COOPER, 1971; COOPER, 1972). A princípio, tentou-se explicar que a diminuição dos níveis séricos de cálcio em resposta à gastrina pudesse ocorrer devido ao aumento da secreção de calcitonina pelas células C da tireóide (COOPER, 1971). JAFFE *et al.* (1974) demonstraram que a queda do cálcio sérico em resposta à gastrina ocorria mesmo em animais submetidos à retirada cirúrgica da tireóide e paratireóide, sugerindo que não havia dependência de liberação de calcitonina para explicar a hipocalcemia.

Posteriormente, foram realizados experimentos nos quais os animais eram submetidos à retirada cirúrgica de segmento intestinal, do estômago, dos rins e da glândula suprarrenal, para então receberem a infusão de gastrina (KAPLAN *et al.*, 1975). O objetivo desse estudo era avaliar a participação de outros órgãos que não a tireóide ou paratireóide, na resposta hipocalcemiante à administração da gastrina. Observaram que os animais continuavam a apresentar queda da calcemia em resposta à gastrina mesmo após ablação intestinal, renal ou suprarrenal. Assim, estavam eliminadas as hipóteses de que a hipocalcemia induzida pela gastrina fosse ocasionada por aumento da excreção renal de cálcio, ação de substância *calcitonina-like* produzida pela suprarrenal, ou por influência na ativação da vitamina D. Interessantemente, em animais nos quais o procedimento cirúrgico consistiu de gastrectomia, não foi observada a hipocalcemia esperada em resposta à gastrina, sugerindo a existência de um outro efector gástrico, e deixando um papel intermediário à gastrina. Estudou-se qual porção da mucosa gástrica seria responsável por tal efeito e demonstrou-se que a retirada de 25% distais da mucosa (antrectomia) não alterava a resposta hipocalcemiante, mas com a

retirada da mucosa oxíntica (fundectomia), nenhuma alteração na dosagem de cálcio sérico acontecia após a infusão da gastrina. Estava então tendo início a idéia de que o estômago pudesse participar da homeostase do cálcio, assim como a calcitonina, o PTH e a vitamina D.

Mais uma vez, KAPLAN *et al.* (1976) evidenciaram a participação do estômago na regulação do cálcio, demonstrando um efeito hipocalcemiante com a administração de gastrina, histamina e colecistocinina que, entretanto, era perdido quando os animais previamente eram submetidos à gastrectomia.

No estudo que utilizou o rato como modelo, PERSSON *et al.* (1988) observaram que a colecistocinina, mas não a gastrina, era capaz de estimular a secreção de calcitonina pelas células C da tireóide. Em animais submetidos à antrectomia, com conseqüente diminuição dos níveis de gastrina, ou naqueles fundectomizados, com hipergastrinemia, o número de células C da tireóide e a concentração sérica de calcitonina mantiveram-se semelhantes aos controles.

Com o conhecimento de que ocorria hipocalcemia em resposta à gastrina, mais especificamente, através da mucosa oxíntica, estudos experimentais foram conduzidos no sentido de determinar qual órgão poderia estar sendo responsável pelo acúmulo deste cátion. Assim, a hipocalcemia em ratos, após a administração de gastrina, não pôde ser explicada pela deposição de cálcio nos rins, fígado, músculos e pulmões (LIMLOMWONGSE *et al.*, 1981). Neste mesmo trabalho, a utilização de cálcio marcado (^{45}Ca) sugeriu que a inibição do efluxo de cálcio dos ossos fosse o responsável pela hipocalcemia induzida pela gastrina. Os animais receberam o cálcio marcado e procedeu-se à retirada de uma tíbia que serviria como controle do osso contralateral. A seguir, administrou-se gastrina intraperitoneal para comparar, após uma hora, a quantidade de cálcio nos dois ossos. O resultado foi o achado de que a tíbia, sob a ação da gastrina, continha 25% a mais de cálcio do que a tíbia utilizada como controle.

Com essa descoberta, iniciava-se agora uma nova etapa nos estudos das inter-relações entre mucosa gástrica e metabolismo ósseo que havia começado 10 anos atrás, quando ocorreram as primeiras observações entre os níveis séricos de cálcio e gastrina. Como era evidente a relação entre a mucosa oxíntica, com os níveis sérico de cálcio e sua retenção óssea, PERSSON *et al.* (1989) apresentaram elegante trabalho tentando esclarecer a natureza do fator hipocalcemiante da mucosa oxíntica. Utilizando extratos de mucosa oxíntica, mostraram que sua administração a animais gastrectomizados era capaz de restaurar o efeito hipocalcemiante de maneira idêntica ao da gastrina quando administrada a animais controles.

Submetendo o extrato à digestão com duas diferentes enzimas, a leucina aminopeptidase e a tripsina, foi possível demonstrar que o fator hipocalcêmico da mucosa gástrica era de natureza protéica e de baixo peso molecular. A ação da primeira enzima, mas não da segunda, causava inatividade do extrato em relação ao cálcio, sugerindo a existência de peptídeo sem aminoácidos básicos residuais. Neste mesmo trabalho, verificaram que a hipocalcemia em resposta à gastrina não ocorria por perda gástrica ou excreção renal de cálcio, uma vez que a queda do cálcio sérico não era acompanhada pelo aumento da quantidade deste cátion no suco gástrico e urina dos animais. Finalmente, a administração de gastrina ou do extrato obtido da mucosa oxíntica, mostrou aumento da captação do ^{45}Ca em rádio e esterno, sugerindo que ambos, tanto o extrato quanto a gastrina, apresentam o mesmo efeito hipocalcêmico. Este achado, somado aos conhecimentos anteriores, indicava que a gastrina teria papel de mediadora desse efeito, ou seja, a gastrina estaria atuando sobre um fator presente na mucosa oxíntica que seria o responsável final pela hipocalcemia. Pela primeira vez, a partir desses achados, esse fator gástrico possivelmente responsável pela hipocalcemia, foi denominado gastrocalcina.

PERSSON *et al.* (1993) mostraram em estudo experimental que a falta da produção ácida do estômago não era responsável pela perda óssea observada em animais submetidos à gastrectomia, uma vez que a administração de omeprazol, um potente inibidor da secreção ácida, não ocasionava perda de massa óssea. Completando esse estudo, os autores forneceram um suplemento parenteral de cálcio a animais gastrectomizados, garantindo o aporte do íon, possivelmente não absorvido pela perda do ácido, resultado da retirada do estômago. Apesar da reposição, esses animais não deixaram de perder massa óssea, que chegou a 40% após seis semanas.

Como a mesma hipocalcemia observada quando da administração da gastrina ocorreu com a utilização de extrato protéico de mucosa oxíntica, inclusive em animais gastrectomizados, hipotetizou-se a existência de produto hormonal existente naquele extrato e que as células ECL poderiam ser as responsáveis pela sua produção. Essas células contêm numerosas vesículas e alguns grânulos densos, estocam histamina e peptídeos derivados da cromogranina-A, como a pancreastatina, em proporções variadas, e são as células endócrinas predominantes na mucosa oxíntica (HAKANSON *et al.*, 1994).

Assim, em 2001, o mesmo grupo sueco demonstrou o efeito de extratos de grânulos e vesículas derivados de células ECL na mobilização do cálcio intracelular em culturas de osteoblastos (LARSSON *et al.*, 2001). Os extratos causaram elevação do cálcio intracelular,

mas isso não se deveu à ação da histamina ou da pancreastatina. Esse efeito pôde ser abolido pela pré-digestão pela leucina aminopeptidase, remetendo à existência de um novo hormônio osteotrópico produzido na mucosa gástrica, implicado no aparecimento da osteopenia pós-gastrectomia.

Levando em consideração que a perda óssea advém do desequilíbrio entre formação e reabsorção ósseas, estudou-se a recuperação de defeito ósseo causado intencionalmente na mandíbula de ratos previamente gastrectomizados e seus controles, sendo que os resultados não mostraram diferenças na reparação entre os dois grupos, sugerindo que o efeito osteopênico da gastrectomia ocorre com aumento da reabsorção óssea (ZELLIN *et al.*, 2002). Num segundo trabalho (ANDERSSON *et al.*, 2002), os animais foram divididos em grupos para serem submetidos à gastrectomia e ooforectomia. O efeito da administração de bisfosfonato (alendronato), estrógeno ou paratormônio (PTH) foi estudado quanto à capacidade de prevenir a osteopenia esperada após cada um desses procedimentos. Através do estudo da densidade mineral em vértebra lombar e fêmur, constatou-se que o alendronato era capaz de prevenir a perda óssea após a gastrectomia e ooforectomia enquanto o estrógeno e o PTH somente demonstraram essa propriedade nos animais ooforetomizados. Este estudo, além de discutir os diferentes mecanismos de ação destas drogas, propõe, pela primeira vez, um diferencial terapêutico do alendronato e provavelmente de outros bisfosfonatos, no manejo de pacientes gastrectomizados com baixa massa óssea.

Por outro lado e integrando a segunda linha de estudos sobre a relação entre estômago e distúrbios osteometabólicos estão os estudos epidemiológicos. Sabe-se que o trato gastrointestinal está, obviamente, associado à absorção de nutrientes críticos à saúde óssea, e situações de enfermidade em qualquer de seus segmentos, seja pela presença de processo inflamatório, seja pela alteração anatômica em casos de ressecções, podem fazer com que distúrbios deles resultantes tenham influência negativa sobre a homeostase óssea. Assim, diminuição da massa óssea pode ser encontrada em até 50% dos pacientes com doença celíaca e em 41% dos pacientes com Doença de Crohn (SYLVESTER, 1999; SCOTT *et al.*, 2000; LORA *et al.*, 2005).

Existe clara correlação entre a ocorrência de osteoporose com a retirada cirúrgica do estômago (gastrectomia) (EDDY, 1971; BISBALLE *et al.*, 1991; ADACHI *et al.*, 2000). Apesar dos resultados não serem uniformes (REJMAN, 1970;; SOUTHERLAND *et al.*, 2001), a gastrectomia é reconhecida como fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose e os pacientes submetidos ao procedimento cirúrgico apresentam maior

incidência de fraturas (HEISKANEN *et al.*, 2001). Uma série de fatores, relacionados à deficiência de absorção de cálcio e vitamina D, perda ponderal e desnutrição, podem estar implicados na doença óssea pós-gastrectomia, mas sua etiopatogênese ainda não está totalmente esclarecida (MARCINOWSKA-SUCHOWIERSKA *et al.*, 1995; MAIER, *et al.*, 1997; ADACHI, *et al.*, 1998).

No estudo de ADACHI *et al.* (1998), a incidência de osteoporose pós-gastrectomia foi de 18% em homens e 71% em mulheres. Dados de um estudo multicêntrico envolvendo 9704 mulheres com mais de 65 anos mostraram que a cirurgia gástrica se relacionava à baixa massa óssea em antebraço e calcâneo (BAUER *et al.*, 1993).

Além de relacionar-se à baixa massa óssea, a gastrectomia também se associa ao aumento no risco de fratura. No trabalho de KANIS *et al.* (1999), foram estudados 730 homens com mais de 60 anos em seis países europeus e a gastrectomia foi encontrada em 3,6% dos pacientes com fratura de quadril, representando risco relativo de 1,79 (IC 95% 1,13-2,85). Em estudo de 438 pacientes submetidos à gastrectomia por úlcera péptica, seguidos por 15,6 anos, a incidência de fratura de quadril foi de 25% com risco relativo de 2,5 (IC 95% 1,9-2,3) e a de vértebras foi de 41% com risco relativo de 4,7 (IC 95% 3,8-4,7) (MELTON *et al.*, 1999). As mulheres sofreram mais fraturas que os homens, mas o risco de fratura não esteve associado ao tabagismo, alcoolismo ou índice de massa corporal. O estudo de metanálise de ESPALLARGUES *et al.* (2001), identificou 80 fatores de risco para osteoporose e classificou-os de acordo com sua força de associação. Deste total, 15% foram considerados com de alto risco para osteoporose e a gastrectomia encontrava-se entre eles.

O tempo decorrido da cirurgia parece estar relacionado a risco aumentado para osteoporose, pois LIEDMAN *et al.* (1997), não encontraram diferença na densidade mineral óssea de pacientes após cinco anos do procedimento cirúrgico quando comparados ao grupo controle, demonstrando que mais tempo poderia ser necessário para o aparecimento da doença osteometabólica. Durante longo período de observação, em média 20 anos, de 165 homens e 62 mulheres gastrectomizados, evidenciou-se osteoporose em 22% e 86% dos pacientes, respectivamente, embora neste estudo o exame diagnóstico para a osteoporose tenha sido a radiografia convencional do segundo metacarpo direito (TOVEY *et al.*, 1990).

ZITTEL *et al.* (1997) estudaram 60 pacientes de ambos os sexos durante cinco a vinte anos após a gastrectomia, utilizando radiografia convencional e tomografia computadorizada quantitativa da coluna lombar, além da dosagem sérica de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina.

A diminuição do cálcio sérico em 68% dos pacientes operados poderia explicar a prevalência de 55% de fraturas vertebrais encontrada nesses pacientes. A causa da hipocalcemia seria a diminuição da ingestão de leite e derivados para evitar a intolerância alimentar, a diminuição da liberação do cálcio ligado a proteínas pela ação ineficiente das proteases em ambiente agora alcalino, o aumento da velocidade do trânsito alimentar e a exclusão de áreas como o duodeno e jejuno proximal, impedindo a absorção de cálcio.

Contrariando a hipótese de dificuldade na absorção de cálcio pela perda da acidez gástrica, estudo da densidade mineral óssea em uso de drogas bloqueadoras da secreção ácida, não demonstrou diferença significativa em relação ao grupo controle (ADACHI *et al.*, 1998).

Um outro mecanismo passível de contribuição para a osteoporose pós-gastrectomia seria a diminuição da absorção da vitamina D ocasionada pela esteatorréia ou pela alteração da dieta, com menor oferta alimentar desta vitamina. Entretanto, parte da vitamina D utilizada no organismo humano provém da ação da luz solar sobre a pele, o que seria suficiente para suprir as necessidades diárias. MELLSTRON *et al.* (1993), estudaram 129 homens submetidos à gastrectomia parcial comparando-os a um grupo controle. A média de idade dos pacientes era 72,1 anos e o tempo médio decorrido da cirurgia foi de 28,5 anos. Os resultados mostraram diminuição da massa óssea em pacientes operados em relação aos controles e maior prevalência de fraturas vertebrais (19% contra 4%). Neste estudo não foram encontradas diferenças nos níveis de cálcio, PTH ou vitamina D. De interesse, a endoscopia digestiva alta realizada em 78 pacientes após a cirurgia evidenciou a presença de gastrite atrófica em 76 deles, mas não foi feita referência à pesquisa do *H. pylori*. Além disso, no estudo de LIEDMAN *et al.* (1997), os níveis de cálcio, fósforo e vitamina D também eram normais nos pacientes gastrectomizados.

Embora a gastrectomia tenha indicação cada vez menos freqüente, mais estudos são necessários para tentar esclarecer a etiopatogenia da doença óssea pós-gastrectomia, e as possibilidades explicativas para a relação entre estômago e osteoporose, principalmente aqueles que envolvam mulheres, grupo mais predisposto à ocorrência da osteoporose.

A anemia perniciosa, estágio final da gastrite auto-imune, tem sido relacionada à menor densidade mineral óssea e ao aumento do risco de fratura óssea. EASTELL *et al.* (1992) mostraram que pacientes com anemia perniciosa apresentavam uma redução de 16% na densidade mineral óssea da coluna lombar quando comparados com controles. O estudo de GOERSS *et al.* (1992) evidenciou risco 1,8 e 2,9 vezes maior para ocorrência de fratura de

vértebra e punho, respectivamente, em pacientes com anemia perniciosa. Em nenhum dos trabalhos foi feita a descrição histopatológica das alterações da mucosa gástrica, trazendo dúvidas quanto ao diagnóstico definitivo de gastrite auto-imune nestes pacientes. Em metanálise para fatores de risco para fratura óssea (ESPARLLAGUES *et al.*, 2001), a anemia perniciosa foi considerada fator de alto risco para fraturas embora os autores ressaltem que as evidências dessa relação não sejam numerosas. Como a anemia perniciosa é o resultado de longo processo silencioso da gastrite atrófica auto-imune, e a osteoporose permanece assintomática até que ocorram fraturas osteoporóticas, estudos sobre os mecanismos fisiopatológicos que relacionam as duas patologias são de difícil condução. Gastrectomia, anemia perniciosa e envelhecimento apresentam em comum elevada prevalência de deficiência de vitamina B₁₂ (MELLSTROM *et al.*, 1993, HEISKANEN *et al.*, 2001, CARMEL *et al.*, 2001, ANDRÈS *et al.*, 2004), e a partir da associação entre anemia perniciosa e osteoporose (EASTELL, *et al.*, 1992, GOERSS *et al.*, 1992), foram conduzidos estudos visando à investigação dos níveis séricos de cobalamina em pacientes com osteoporose. Os resultados são controversos. Os estudos de STONE *et al.* (2004) e TUCKER *et al.* (2005) mostraram relação entre baixa massa óssea em fêmur e quadril e níveis diminuídos de vitamina B₁₂, o que não ocorreu com os trabalhos de CAGNACCI *et al.* (2003) e GJESTAL *et al.* (2006). REJNMARK *et al.* (2008) mostraram relação entre a ingestão de folato e massa óssea em mulheres na pós-menopausa, mas não encontraram relação com a quantidade diária ingerida de vitamina B₁₂. Adicionalmente, DHONUKSHE-RUTTEN *et al.* (2003) estudaram duas populações distintas em relação à faixa etária e encontram associação entre diminuição do conteúdo mineral e vitamina B₁₂ em mulheres mas não em homens.

A vitamina B₁₂ poderia influenciar o metabolismo ósseo de duas maneiras. A cobalamina é importante co-fator no metabolismo de aminoácidos, e sua deficiência leva à elevação no nível plasmático de homocisteína, o que tem sido relacionado à osteoporose (VAN MEURS *et al.*, 2004) e ao aumento do risco de fraturas (MCLEAN *et al.*, 2004, DHONUKSHE-RUTTEN *et al.*, 2005). A cisteína, que é formada a partir do metabolismo da homocisteína, apresenta entre suas funções a participação na manutenção estrutural de diversas proteínas, como o colágeno. Recente estudo de BAINES *et al.* (2007) mostrou associação entre níveis plasmáticos de cisteína e densidade mineral óssea, quando entre 328 mulheres na pós-menopausa, aquelas com menor massa óssea apresentaram níveis mais baixos de cisteína. Outro possível efeito seria ação direta da vitamina B₁₂ sobre os osteoblastos, uma vez que resposta proliferativa e funcional, dose-dependentes, foi observada

quando da estimulação de linhagens celulares derivadas de osteossarcoma pela vitamina B₁₂ (KIM *et al.*, 1996).

O *H. pylori*, que infecta mais da metade da população mundial, parece relacionar-se a diferentes condições patológicas, sendo o desfecho final da infecção resultado da complexa interação entre o microorganismo e o hospedeiro. Além das conseqüências da gastrite crônica, como a atrofia da mucosa gástrica, a infecção resulta em alterações do sistema imune. Por sua vez, os osteoclastos podem ser ativados por citocinas produzidas em vigência de processo inflamatório sistêmico, como as interleucinas 1, 6 e o fator de necrose tumoral. Além disso, os osteoblastos expressam um ligante de superfície (*receptor activator of NF- κ B ligand*, ou RANKL) capaz de se ligar a receptores ativadores de osteoclastos, o que é regulado pelas células efectoras dos processos inflamatórios (linfócitos T e células dentríticas). Estes poderiam ser mecanismos pelos quais as doenças inflamatórias sistêmicas influenciam negativamente o metabolismo ósseo (ANDERSON *et al.*, 1997; HSU *et al.*, 1999;). Levando-se em consideração a produção de citocinas em resposta às alterações no sistema imune adaptativo na infecção pelo *H. pylori*, poderia se considerar também possível influência dessa entidade patológica sobre o metabolismo ósseo.

Apesar dos estudos que mostram associação do *H. pylori* com doenças cardiovasculares, neurológicas e pulmonares, pouco há sobre sua relação com metabolismo ósseo. Embora FIGURA *et al.* (2005) tenham demonstrado aumento da prevalência de osteoporose em homens, OZDEM *et al.* (2007) relataram que a infecção pelo *H. pylori* não se acompanhou de mudanças significativas em marcadores de remodelação óssea em crianças. Em estudo desenvolvido no LPDN, onde se procedeu ao estudo da densidade de células parietais da mucosa oxíntica em mulheres na pós-menopausa com e sem osteoporose, não foi possível evidenciar relação entre atrofia gástrica ou infecção pelo *H. pylori* e densidade mineral óssea em coluna lombar ou fêmur (KAKEHASI *et al.*, 2007). A prevalência de infecção pelo *H. pylori* não foi estatisticamente significativa entre os grupos e, em verdade, a densidade de células parietais encontrada foi maior no grupo de mulheres pós-menopausa com osteoporose em relação ao grupo sem osteoporose.

Todos os dados discutidos acima colocam em evidência a participação do estômago no metabolismo do cálcio e provável relação com a densidade mineral óssea, embora por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos. Essa participação pode dever-se não só pela influência na absorção do cálcio e da vitamina D, mas também pela possível produção de um peptídeo capaz de influenciar o metabolismo ósseo, impedindo a reabsorção óssea ou

aumentando a incorporação do cálcio nos ossos. A diminuição da população de células parietais, resultado final do processo inflamatório local presente na gastrite auto-imune, ou associada à presença do *H. pylori*, bem como as alterações inflamatórias sistêmicas decorrentes dessa infecção, poderiam também se associar a alterações na densidade mineral óssea.

Outro importante aspecto do estudo da atrofia da mucosa gástrica é a relação que se admite existir com o câncer gástrico. O câncer gástrico é o quarto tipo mais freqüente entre as neoplasias e o segundo em número de mortes, com incidência variando de 7,5 a 95,5 casos para cada 100.00 habitantes (KELLEY, 2003). O Japão apresenta elevada incidência deste tipo de neoplasia (CORREA *et al*, 2004) e, embora os números de incidência e mortalidade mostrem tendência decrescente no mundo, o número absoluto de casos aumenta anualmente. Isso se deve, em parte, ao aumento populacional em países com elevada prevalência para neoplasia gástrica, como é o caso do Brasil (PARKIN, 2001; ARAÚJO-FILHO *et al.*, 2006).

O tipo histológico mais freqüente é o adenocarcinoma (90% dos casos), dividindo-se em duas categorias: o tipo intestinal, mais freqüente e que mostra formação glandular à semelhança do adenocarcinoma colônico, e o tipo difuso, que infiltra a mucosa gástrica sem mostrar formações glandulares (LAUREN, 1965). Em qualquer dos dois casos a sintomatologia é escassa e o diagnóstico, muitas vezes, tardio. Apesar das possibilidades terapêuticas, a sobrevida estimada, quando as células neoplásicas ultrapassaram a camada muscular própria, é de 20% em cinco anos (BOWLES, 2001).

Acredita-se que o desenvolvimento do carcinoma gástrico do tipo intestinal ocorra através de processo seqüencial evolutivo de lesões precursoras, que resultam da interação entre fatores ambientais, fatores próprios do hospedeiro, e agente infeccioso (*Helicobacter pylori*) (CORREA, 2004). Entre os fatores de risco estão: idade avançada, baixo nível sócio-econômico, presença de anemia perniciosa, pólipos adenomatosos gástricos, doença de Ménétrier, dieta rica em alimentos em conserva ou consumo de alimentos com alto teor de sal, e dieta pobre em frutas e vegetais frescos. História familiar, mesmo quando controlada para a presença do *H. pylori*, representou ser fator de risco, sugerindo componente genético associado à doença.

Ainda em relação ao hospedeiro, sabe-se que polimorfismos genéticos presentes em indivíduos infectados podem determinar particularidades na resposta imune inata ao *H. pylori* e com isso aumentar o risco ao câncer gástrico. Exemplos incluem a expressão aumentada das moléculas de reconhecimento intracelular NOD1 e NOD2 (nucleotide-binding

oligomerization domain) e da cicloxigenase 2 (COX-2) nas células epiteliais gástricas (MOSS, 2007). Outro polimorfismo genético associado ao câncer gástrico foi o relacionado ao receptor de lipopolissacarídeos (LPS) chamado Toll 4 (TLR4) presentes nas células do sistema inato do hospedeiro (HOLD, 2007). De interesse é o estudo sobre a produção de interleucina 1 β (IL-1 β), citocina inflamatória com ação inibitória sobre a produção ácida gástrica, evidenciando que indivíduos portadores de polimorfismo pró-inflamatório têm risco para câncer gástrico aumentado em duas a três vezes (EL-OMAR *et al.*, 2000). A associação de variantes alélicas para IL-1 β , IL-10, e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), determinam risco 27 vezes maior para câncer gástrico (EL-OMAR *et al.*, 2003).

Com a descoberta e associação entre *H. pylori* e inflamação gástrica, grande conhecimento sobre a carcinogênese gástrica foi adquirido e, em 1994, a Agência Internacional para Pesquisa em Câncer passou a considerar a bactéria como carcinógeno humano (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC, 1994) (IARC, 1994). Estima-se que 20% de todas as neoplasias estejam associadas a agentes infecciosos e deste total, o *H. pylori* responde por um quarto dos casos (PARKIN, 2006). Ainda mais especificamente, este microrganismo relaciona-se a 65% dos casos de câncer gástrico.

Desde a primeira metade do século XX estudos em espécimes de tecido gástrico mostraram maior prevalência de inflamação em exemplares de lesões neoplásicas em relação àqueles de indivíduos com úlcera péptica. A infecção pelo *H. pylori* é responsável por aproximadamente 90% das gastrites, sendo que por volta da quinta década de vida estima-se que mais da metade dos indivíduos apresentem achados de gastrite (SIURALA *et al.*, 1968).

Recente estudo demonstrou que a gastrite desenvolvida em gerbils (*Meriones unguiculatus*, também conhecido como esquilo da Mongólia) após a infecção por cepa de *H. pylori* cagA negativa foi menos intensa do que naqueles infectados por cepas cagA positivas (FRANCO *et al.*, 2008). Além disso, o risco de desenvolvimento de neoplasia se relacionou positivamente e de forma independente à infecção por cepas cagA e OipA positivas. No Brasil, o estudo de QUEIROS *et al.* (1998) em 119 pacientes com carcinoma gástrico e controles, encontrou associação entre a variante cagA do *H. pylori* e o carcinoma distal do estômago, tanto do tipo intestinal quanto difuso, para homens e mulheres. Outro estudo brasileiro, de CABRAL *et al.* (2006) mostrou que a expressão de marcadores protéicos de apoptose em espécimes de biópsias gástricas de indivíduos infectados por cepas *H. pylori* cagA positivas era maior do que naqueles *H. pylori* cagA negativos, suportando a associação

entre a infecção por espécie *cagA* positiva e a possibilidade de desenvolvimento de atrofia da mucosa gástrica e neoplasia do estômago.

O modelo de carcinogênese na gastrite multifocal associada ao *H. pylori* proposta por CORREA (1992) envolve a presença de processo inflamatório crônico na mucosa do estômago cujo resultado seria o aumento do pH luminal, redução de nitrato, recrutamento de células tronco derivadas da medula óssea e formação de óxido nítrico, molécula implicada em modelos de carcinogênese (FIGURA 2). Várias substâncias relacionadas ao óxido nítrico alteram irreversivelmente o DNA celular e o funcionamento mitocondrial das células epiteliais, e induzem alteração na proliferação celular. Discute-se ainda que o *H. pylori* possa se comportar de maneira invasiva e ser capaz de induzir a mutação genética de forma independente da presença do processo inflamatório, cujo resultado seria a diminuição de expressão de proteínas reparadoras do DNA e o acúmulo de mutações no gene supressor p53 (MOSS, 2007).

Outra alteração possivelmente associada à carcinogênese pelo *H. pylori* é a metilação de genes supressores tumorais como, por exemplo, o gene da E-caderina, cuja mutação associa-se a perda das junções celulares e desregulação na proliferação celular (NAKAJIMA *et al*, 2006).

Histologicamente, a tradução desse processo na mucosa gástrica é a presença evolutiva em cascata das alterações de atrofia, metaplasia, displasia, culminando com transformação neoplásica. À perda glandular segue-se a metaplasia do epitélio remanescente por células com fenótipo intestinal (metaplasia tipo I), nas fases iniciais com características de intestino delgado e, posteriormente, por células de epitélio colônico (metaplasias tipo II e III).

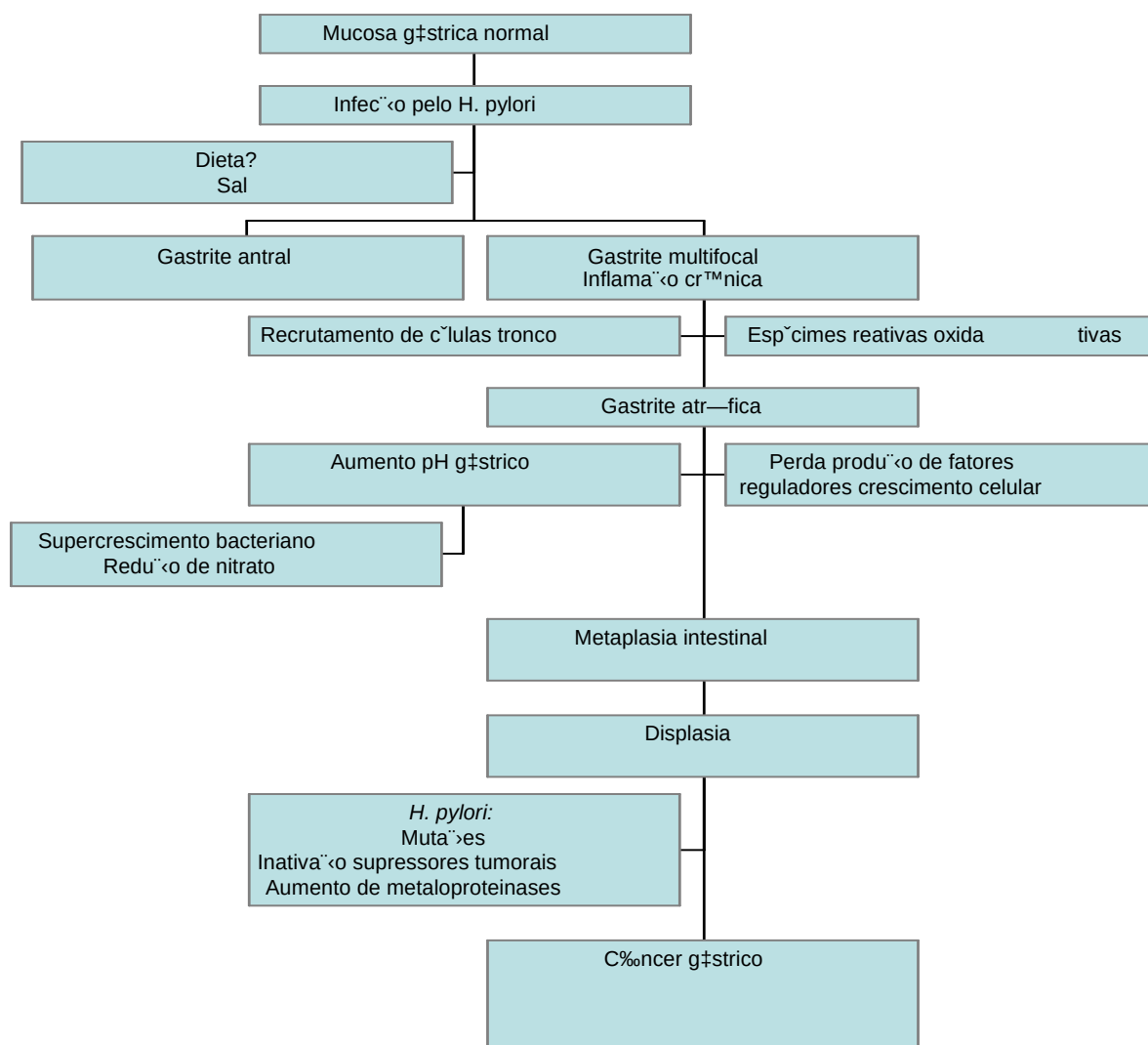


FIGURA 2. Seqüência das alterações histopatológicas da mucosa gástrica e dos fatores relacionados ao desenvolvimento do adenocarcinoma gástrico, adaptado de Pelayo Correa, 1992.

De acordo com a coloração por imuno-histoquímica para mucinas produzidas pelos diferentes tipos celulares, a metaplasia gástrica podem ser dividida em completa e incompleta, sendo esta última frequentemente encontrada nos arredores das espécimes de biópsias de neoplasia gástrica. Também a presença de metaplasia pseudo-antral na mucosa oxíntica está relacionada ao desenvolvimento de câncer gástrico, principalmente quando essas células com fenótipo antral expressam o peptídeo espasmolítico (SPEM – spasmolytic polypeptide expressing metaplasia) (YAMAGUCHI *et al.*, 2002). Quando as células passam a exibir

atipias nucleares e desarranjo arquitetural, lembrando estruturas tubulares irregulares, tem-se a displasia. Não há ainda invasão da membrana basal, a partir da qual se tornam carcinomas invasivos.

De grande interesse no estudo da carcinogênese gástrica são as evidências do estudo experimental de neoplasia gástrica induzida pelo *H. pylori* em linhagem murina C57BL/6. Demonstrou-se que a inflamação crônica leva a injúria tecidual e atrofia mucosa, o que, com o tempo, culmina com a falência das células-tronco periféricas em reparar danos celulares. A isso segue-se estímulo para o recrutamento de células-tronco derivadas da medula óssea. A permanência dessas células num ambiente com elevado nível de citocinas e fatores de crescimento faz com que, embora mantenham sua capacidade de diferenciação, tornem-se deficitários os mecanismos de regulação de crescimento celular, e essa linhagem primitiva se envolve no processo metaplasia-displasia-neoplasia (CORREA *et al.*, 2007).

Ainda que o modelo descrito acima seja atualmente considerado a evolução natural do câncer gástrico, associando o *H. pylori* à neoplasia do estômago, os resultados histológicos e conseqüências epidemiológicas da erradicação da bactéria em relação ao câncer gástrico são temas de controvérsia (OHKUSA, 2004). O estudo de LU *et al.* (2005) mostrou que a erradicação do *H. pylori* ocasionou reversão significativa do grau de atrofia nos pacientes tratados, num período de seguimento de três anos e, da mesma forma, após a erradicação da bactéria em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico, observou-se melhora quantitativa do componente glandular oxíntico no estudo de VAN GRIEKEN *et al.* (2001). Por outro lado, o maior estudo sobre o tema, com mais de três mil indivíduos chineses sob risco para câncer gástrico seguidos por sete anos, mostrou redução da taxa de câncer gástrico de 2,4% para 1,7% nos indivíduos nos quais a bactéria foi erradicada, embora sem significância estatística (YOU *et al.*, 2006).

Além da questão sobre os resultados da erradicação do *H. pylori* sobre o risco de desenvolvimento de neoplasia gástrica, a presença de atrofia gástrica parece ser essencial como lesão precursora do câncer gástrico tipo intestinal, de forma não dependente da infecção pela bactéria (ZAVROS *et al.*, 2005). O estudo randomizado de WONG *et al.* (2004) mostrou que a erradicação se relacionou a menor risco de desenvolvimento de neoplasia somente nos casos em que não estavam presentes atrofia e metaplasia gástrica. Adicionalmente, o estudo de TAKE *et al.* (2007), embora utilizasse escore endoscópico para o diagnóstico e gradação de atrofia da mucosa gástrica, relacionou o desenvolvimento de neoplasia gástrica à intensidade da atrofia gástrica presente anteriormente ao tratamento de erradicação do *H. pylori*. De maneira semelhante, o Consenso de Maastricht para o tratamento do *H. pylori*

recomenda que a erradicação da bactéria com vistas à prevenção da neoplasia gástrica tem indicação mais valiosa quando ainda não estão presentes lesões pré-neoplásicas (atrofia, metaplasia e displasia) (MALFERTHEINER, 2007). Consequentemente e, levando-se em consideração que mais de 50% da população mundial está infectada, torna-se relevante todo esforço para o estabelecimento de métodos de seleção adequada de indivíduos que se beneficiariam da erradicação bacteriana.

Estima-se que o risco de desenvolvimento de câncer gástrico em dez anos seja de 4% para homens e de 17% para mulheres, respectivamente, segundo a presença de atrofia grave da mucosa gástrica oxíntica (SIPPONEN *et al.*, 1985). As taxas anuais de progressão da atrofia gástrica, relacionada ou não à anemia perniciosa, para neoplasia variam de 0% a 1,8%, e estão relacionadas, entre outros fatores, à extensão da lesão atrófica na mucosa (de VRIES *et al.*, 2007).

Uma coorte japonesa com 6983 participantes seguidos por 4,7 anos avaliou a relação entre atrofia gástrica, infecção pelo *H. pylori* e desenvolvimento de câncer gástrico. A atrofia gástrica foi definida segundo níveis de pepsinogênio e relação pepsinogênio I/II e foram realizadas endoscopias digestivas anualmente. Os pacientes foram agrupados em quatro grupos segundo a presença ou ausência do *H. pylori* e a presença ou não de atrofia. Evidenciou-se relação entre risco para câncer gástrico e atrofia da mucosa gástrica independente da infecção pelo *H. pylori*. A incidência de câncer gástrico em pacientes com atrofia da mucosa gástrica, *H. pylori* negativos foi de 1,8% ao ano para homens, enquanto pacientes infectados pela bactéria e níveis normais de pepsinogênio mostraram menor risco para o desenvolvimento de neoplasia gástrica, de 0,4% ao ano, semelhante ao risco do grupo de indivíduos sem atrofia e *H. pylori* negativos (0,3% ao ano) (WATABE *et al.*, 2005). Um outro estudo, de TAKE *et al.* (2007) avaliou o desenvolvimento de câncer gástrico em pacientes com doença péptica gástrica ou duodenal que foram submetidos ao tratamento para o *H. pylori*, divididos em curados ou com infecção persistente. Embora utilizasse critério de atrofia baseado num escore de achados endoscópicos, o acompanhamento mostrou que a incidência de câncer gástrico somente ocorreu naqueles indivíduos que apresentavam atrofia grave à endoscopia inicial, sugerindo que a erradicação da bactéria seria idealmente benéfica em estágio anterior ao da extensão da atrofia da região antral para o corpo gástrico.

Utilizando uma linhagem de animais geneticamente deficientes na produção de gastrina, trabalho de ZAVROS *et al.* (2005) também mostrou relação entre atrofia gástrica e desenvolvimento de neoplasia gástrica. A gastrina, produzida pelas células G antrais, detém a capacidade de estimular ambas a secreção ácida gástrica e a proliferação dos componentes

glandulares oxínticos. Neste modelo os animais que não produziam gastrina desenvolviam gastrite por supercrescimento bacteriano, com conseqüente atrofia dos componentes glandulares oxínticos e, finalmente, transformação neoplásica. Os resultados mostraram ainda ausência de expressão do supressor tumoral RUNX3 nos tecidos neoplásicos, aumento da expressão do marcador tumoral STAT3 fosforilado, bem como aumento da expressão de INF gama (citocina inflamatória responsável pela ativação do STAT3), o que não pôde ser observado nos animais controles. Sugere-se que inflamação e atrofia da mucosa gástricas seriam responsáveis pela transformação fenotípica dos componentes celulares na progressão ao câncer gástrico.

Assim, a atrofia gástrica, definida como perda de tecido glandular especializado, parece relacionar-se de maneira mais consistente à neoplasia do estômago do que a metaplasia intestinal, constituindo etapa crucial da cascata de Correa para o desenvolvimento do câncer gástrico (CORREA, 1992). Foi demonstrado que a maioria dos casos de neoplasia intestinal do estômago ocorrem em áreas de atrofia da mucosa gástrica que, através de uma frente de avanço, ultrapassaram proximalmente a região do antro, atingindo o corpo gástrico (EL-ZIMAITY *et al.*, 2002). Como conseqüência da atrofia gástrica, a diminuição da massa de células parietais na mucosa do corpo gástrico levaria a deficiência de secreção, por essas células, de fatores de sinalização de crescimento e diferenciação que favorecem a proliferação de progenitores gástricos indiferenciados possivelmente relacionados ao desenvolvimento do câncer gástrico. Por exemplo, a proteína *sonic Hedgehog*, membro de uma família de proteínas que exerce funções regulatórias sobre o crescimento e diferenciação de diversos tipos celulares durante a embriogênese, seria um dos fatores perdidos durante a evolução da atrofia da mucosa gástrica, uma vez que estudos animais e em humanos mostraram não somente a expressão dessa proteína pelas células parietais como também uma menor densidade de coloração dessa proteína utilizando-se imuno-histoquímica em indivíduos com gastrite atrófica (SHIOTANI *et al.*, 2005).

ZAVROS *et al.* (2007) mostraram que o tecido gástrico atrófico e neoplásico é deficiente em pepsina A, responsável pela clivagem da proteína *sonic Hedgehog* à sua forma ativa, levando à perda de um dos fatores que participam da manutenção fenotípica das células secretoras de ácido da mucosa oxíntica gástrica. Além disso, a produção diminuída de ácido clorídrico que decorre da menor densidade de células parietais, eleva o pH intragástrico, favorecendo o supercrescimento bacteriano e a produção de nitrosamina através da conversão de nitrato em nitrito, substância carcinogênica. O ambiente menos ácido não é favorável à sobrevivência do *H. pylori*, mas torna possível o cultivo de outras espécies que podem ser

causa de alterações patológicas na mucosa gástrica semelhantes às aquelas causadas pelo *H. pylori* (FOX *et al.*, 2007).

Outra evidência da relação entre atrofia gástrica e câncer gástrico ocorre pela constatação de que pacientes com anemia perniciosa, cuja atrofia do corpo gástrico é acentuada, têm risco de desenvolvimento de câncer gástrico três a cinco vezes maior do que o da população geral (BRINTON, 1989; HSING *et al.*, 1993). O risco para tumor carcinóide gástrico numa coorte de 2021 homens e 2496 mulheres com diagnóstico de anemia perniciosa e seguidos por até vinte anos, foi 13 vezes maior do que ao da população geral (HSING, 1993). Os mecanismos ainda não estão totalmente elucidados, mas a acloridria, ao favorecer a conversão de nitratos em nitritos, e a hipergastrinemia, ao exercer influência trófica positiva sobre as células ECL, podem desempenhar papel neste processo de carcinogênese.

Pacientes com atrofia gástrica são frequentemente assintomáticos e estão sob risco de desenvolverem neoplasia gástrica. Os achados observados à endoscopia digestiva e a análise histopatológica das amostras de tecido coletadas durante o procedimento são largamente empregadas para o estudo das patologias gástricas e perto de 100% dos casos de neoplasia gástrica podem ser diagnosticados através dessa combinação propedêutica. Apesar disso, há dificuldade no diagnóstico e gradação em relação à atrofia gástrica, principalmente levando-se em conta tratar-se de processo evolutivo de comportamento lento. Até o presente momento, o método mais confiável para o diagnóstico de atrofia gástrica é a análise histopatológica de fragmentos da mucosa gástrica coletados durante a endoscopia digestiva. Na tentativa de melhor entender esse processo e permitir o diagnóstico individual adequado, a classificação atualizada de Sydney (DIXON, 1996) descreve aspectos histopatológicos das gastrites, combinando informações topográficas, etiológicas e morfológicas da mucosa gástrica. Utiliza escala visual para gradação de variáveis: presença e intensidade do *H. pylori*, polimorfonucleares (atividade), mononucleares (inflamação crônica), atrofia glandular e metaplasia intestinal. Apresenta boa reprodutibilidade para os critérios de inflamação e metaplasia, não ocorrendo o mesmo para a atrofia glandular (EL-ZIMAITY *et al.*, 1996; GUARNER *et al.*, 1999). Apesar da diminuição a variação inter-observador ter sido uma das finalidades da introdução da escala visual de gradação para atrofia, esse aspecto ainda não dispõe de critérios consensuais de determinação e quantificação. Adicionalmente, diferenças geográficas e étnicas, e variações topográficas na localização e gravidade da atrofia glandular, podem levar a dificuldade no estudo e interpretação da atrofia. Várias alternativas de estudos morfológicos mais objetivos têm sido propostas, mas por motivos de consumo de tempo ou necessidade do emprego de tecnologia indisponível em escala mundial, elas ainda não têm

utilização corrente na prática clínica. O trabalho de VAN GRIEKEN *et al.* (2001) propõe inclusive modificação na classificação de Sydney para os diferentes graus de atrofia oxíntica ao unir os diagnósticos histopatológicos de atrofia ausente e discreta, passando a considerar somente três classes: ausente, moderada e acentuada. Por sua vez, RUGGE *et al.* (2002) acrescentam subdivisão ao item atrofia, segundo a presença ou ausência de metaplasia intestinal. O grupo do mesmo autor (RUGGE *et al.*, 2007), ao considerar a importância da aplicação clínica do diagnóstico histológico das gastrites e levando-se em conta a localização e intensidade da atrofia da mucosa gástrica, propõe a classificação das alterações histopatológicas da mucosa gástrica através de sistema de estadiamento denominado sistema OLGA (Operative Link on Gastritis Assessment) para o estudo das gastrites. Esse sistema de escores intenciona fornecer informações prognósticas à prática clínica ao demonstrar que as condições benignas permanecem agrupadas nos estádios I e II e as pré-malignas e malignas nos estádios III e IV.

Mesmo considerando que individualmente as conseqüências da divergência sobre o diagnóstico da atrofia gástrica possam não ser graves, a falta de uniformidade dos estudos compromete a validação no que se refere ao estudo da evolução das alterações atróficas da mucosa gástrica, e suas relações com infecção pelo *H. pylori* e câncer gástrico. Um exemplo da variação metodológica é o VAN GRIEKEN *et al.* (2001), que ao estudar a reversibilidade da perda glandular após a erradicação do *H. pylori*, utiliza método morfométrico de quantificação glandular em detrimento da classificação revisada de Sydney.

Outra medida utilizada para avaliação da presença de atrofia da mucosa gástrica é a dosagem sérica de produtos protéicos da mucosa oxíntica. Os pepsinogênios I (PGI) e II (PGII) são precursores da pepsina secretados na luz gástrica, sendo que apenas 1% do total produzido é encontrado na circulação sanguínea (MUKOUBAYASHI *et al.*, 2006). Diferentemente do PGII, que é produzido no antro, no duodeno, e nas glândulas de Brunner, o PGI é secretado exclusivamente pelas células principais e mucosas do corpo gástrico e sabe-se que seus níveis séricos refletem a morfologia e função da mucosa oxíntica, como também a presença de processo inflamatório. Na presença de atrofia glandular oxíntica acompanhada de metaplasia intestinal, a presença da atividade da mucosa metaplásica ocasiona aumento na produção do PGII, o que leva a diminuição da relação PGI/PGII, taxa que constitui outra medida utilizada na avaliação de atrofia da mucosa gástrica.

A utilização da dosagem do pepsinogênio sérico como marcador de atrofia gástrica foi introduzida em 1982 por SAMLOFF (1982) e, desde então, estudos avaliam sua utilização isolada como método não invasivo para a detecção de atrofia da mucosa gástrica e como

preditor do risco de câncer gástrico (SITAS *et al.*, 1993; YOSHIHARA *et al.*, 1998; BODGER *et al.*, 2001; DINIS-RIBEIRO *et al.*, 2004)). Assim, no Japão, desde o início dos anos 90 a dosagem do pepsinogênio faz parte do programa de *screening* para o câncer gástrico. Ocorre que, mesmo naquele país com alta prevalência de neoplasia do estômago, 30 a 40% dos casos apresentam níveis normais de pepsinogênio, e assim, considera-se que a melhor forma de se rastrear o câncer gástrico seja utilizar a dosagem sérica do peptídeo em associação com o exame radiográfico contrastado com bário (OHATA *et al.*, 2005).

No estudo da atrofia da mucosa gástrica e dos níveis séricos de pepsinogênio em relação ao risco de câncer gástrico, ainda permanecem indefinições. Como os estudos mostram baixo valor preditivo positivo quando consideravam como resultado normal do pepsinogênio sérico até 100 ng/ml, alguns autores passaram a utilizar valores de referência mais baixos. Por isso são encontrados valores de ponto de corte (“cut-off values”) tão diferentes para a dosagem do pepsinogênio I, como 50, 70 ou 100 ng/ml, o mesmo ocorrendo para a relação PGI/PGII (SITAS *et al.*, 1993; YOSHIHARA *et al.*, 1998; OHATA *et al.*, 2005; OHATA *et al.*, 2004; QIN *et al.*, 2007) (TABELA 1). Questão ainda indefinida refere-se ao fato de que a maioria dos estudos que utilizam o pepsinogênio como marcador de atrofia da mucosa gástrica foram realizados no Japão, e a validade da utilização do pepsinogênio em outros países não está estabelecida.

TABELA 1

Valores de referência para pepsinogênio sérico, relação PGI/PGII, e sensibilidade e especificidade dos testes utilizados em estudos sobre a relação da atrofia gástrica com gastrite atrófica ou risco para câncer gástrico.

Autor, ano	Pepsinogênio I	PGI/PGII	Sensibilidade/Especificidade (%)
SITAS <i>et al.</i> , 1993	ND	≤1,5	25/94
YOSHIHARA <i>et al.</i> , 1998	≤50 µg/l	≤3	ND
OKSANEN <i>et al.</i> , 2000	≤28 µg/l	ND	81/99
SANDULEANU <i>et al.</i> , 2003	ND	≤2,5	62/95
OHATA <i>et al.</i> , 2004	≤70 µg/l	≤3	ND
OHATA <i>et al.</i> , 2005	≤50 µg/l	≤3	69/80
CAO <i>et al.</i> , 2007	≤82,3 µg/l	≤6	85,9/75,1

PGI/PGII: relação pepsinogênio I/pepsinogênio II, ND: não disponível

Como em resposta à atrofia do corpo gástrico ocorre hipergastrinemia por hiperfunção das células G antrais, a dosagem sérica de gastrina também tem sido utilizada como marcador de atrofia, com sensibilidade e especificidades variáveis, em geral menores do que a da relação pepsinogênio I e II (OKSANEN *et al.*, 2000, SANDULEANU *et al.*, 2003).

Uma vez que a infecção pelo *H. pylori*, além das alterações inflamatórias e atróficas na mucosa gástrica, é responsável por induzir a alterações inflamatórias sistêmicas, incluindo a produção de citocinas inflamatórias, a dosagem de IL-8 também foi relacionada à presença de atrofia gástrica. O estudo de SANDULEANU *et al.* (2003) mostrou que associação da dosagem de IL-8 com a taxa PGI/PGII apresentava acurácia de 91% em identificar casos de atrofia do corpo gástrico.

A ghrelina é um peptídeo de 28 aminoácidos, isolada inicialmente de estômagos de ratos e posteriormente de humanos (KOJIMA *et al.*, 1999). Está envolvida com a regulação da secreção do hormônio do crescimento, ingestão alimentar, reserva lipídica e controle do peso (MURRAY, 2003), e sua principal fonte produtora parece ser a célula A/X like da mucosa oxíntica (DATE, 2000). O estreito contato dessas células com as células parietais e a descrição da diminuição dos níveis séricos de ghrelina nos casos de gastrite atrófica por *H. pylori* (SHIOTANI, 2005) levaram a investigação da possível utilização dos níveis séricos desse peptídeo como marcador de atrofia gástrica. Assim, o trabalho comparativo de CHECCI *et al.* (2007) entre ghrelina, pepsinogênio, gastrina e anticorpo anti-célula parietal em pacientes com gastrite auto-imune mostrou que a ghrelina sérica se correlacionou negativamente com a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica e foi superior em sensibilidade e especificidade em relação aos demais marcadores.

Conclui-se que, embora exista clara relação entre atrofia gástrica e risco de desenvolvimento de neoplasia gástrica, os métodos atuais de avaliação das alterações atróficas da mucosa gástrica não são, por variados motivos, satisfatórios. Assim, estudos que visem ao aprimoramento do estudo da atrofia da mucosa gástrica são necessários para melhor definição de sua evolução natural e inter-relações com as diferentes cepas *H. pylori*, podendo auxiliar na construção ou validação de métodos de identificação e acompanhamento de indivíduos em risco para câncer gástrico.

6. PACIENTES E MÉTODO

6.1 PACIENTES

Os pacientes incluídos neste estudo transversal foram selecionados de duas maneiras.

Grupo 1: Constituiu-se de pacientes atendidas no Ambulatório de Dispepsia do Serviço de Gastroenterologia e no Ambulatório de Reumatologia, ambos funcionando no Anexo Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG, situado à Alameda Álvaro Celso, 175.

Os atendimentos foram agendados conforme demanda espontânea ou por encaminhamento médico. As queixas que motivaram as consultas e os encaminhamentos foram a presença de dispepsia e o próprio conhecimento da realização deste estudo por parte das pacientes. Após avaliação clínica com entrevista padronizada, análise dos critérios de inclusão e exclusão, as pacientes foram orientadas sobre os objetivos do estudo, bem como todos os procedimentos envolvidos em suas etapas e, em conformidade com termo de consentimento livre e esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFMG (Anexo 1), deram seu consentimento por escrito em participar da pesquisa.

Os critérios de inclusão foram:

1. Pacientes do sexo feminino;
2. Pacientes com idade igual ou superior a 50 anos;
3. Pacientes há mais de cinco anos sem apresentar fluxos menstruais;
4. Pacientes em concordância em participar do estudo e que tivessem assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os critérios de exclusão foram:

1. Tabagismo;
2. Etilismo;
3. Uso de terapia de reposição hormonal;
4. Uso de anticonvulsivantes;
5. Uso de medicação bloqueadora da secreção ácida gástrica;

6. Uso de medicação antiinflamatória não-hormonal nos últimos três meses;
7. Uso de glicocorticóide oral em dose superior à 7,5 mg, por mais de 30 dias em qualquer época anterior ao estudo;
8. Uso de suplemento de cálcio, vitamina D ou seus metabólitos ativos (alfacalcidol ou calcitriol);
9. História de distúrbio tireoidiano ou uso de hormônio tireoidiano exógeno;
10. Presença de úlcera péptica ativa ou em cicatrização à endoscopia digestiva alta;
11. História de doença neoplásica ou síndrome de má-absorção intestinal;
12. Uso de diurético tiazídico.

As pacientes deste grupo foram atendidas no período de março de 2002 a março de 2006 e encaminhadas inicialmente para realização de teste respiratório e endoscopia digestiva alta, ambos no Instituto Alfa de Gastroenterologia no Hospital das Clínicas da UFMG. Após esta etapa, as pacientes foram encaminhadas para o Instituto de Patologia Clínica Hermes Pardini, à Rua Aimorés, no. 66, para coleta de amostra de sangue e exame de densitometria óssea. Após a realização de todas as etapas do estudo, as pacientes foram solicitadas a retornarem para nova consulta médica para entrega dos resultados dos exames e orientação conforme necessário.

Grupo 2: O segundo grupo de pacientes foi constituído retrospectivamente a partir dos arquivos de laudos do setor de Anatomia Patológica do Instituto Alfa de Gastroenterologia – Hospital das Clínicas da UFMG que apresentavam gastrite crônica com graus variáveis de atrofia da mucosa do corpo e mucosa antral preservada ou com alterações inflamatórias discretas. Assim, foram selecionados 194 casos de pacientes que realizaram endoscopia digestiva alta com biópsias gástricas do antro e corpo, entre os anos de 2004 a 2006, por indicação de sintomas dispépticos ou para fins de propedêutica. Novos fragmentos das biópsias endoscópicas foram novamente coradas pela hematoxilina-eosina (HE) e avaliadas por um único patologista. Independente do sexo ou idade, os pacientes foram então convidados a participar do estudo através da localização pelos informes obtidos no setor de marcação de exames do Instituto Alfa ou do Serviço de Arquivo Médico (SAME) do Hospital das Clínicas da UFMG. Os pacientes foram convidados a comparecer a uma entrevista

padronizada realizada no 5º. Andar do Ambulatório Bias Fortes e foram esclarecidos sobre os propósitos da pesquisa e encaminhados, após assinarem termo de consentimento, para a realização do teste respiratório e para a coleta de amostra de sangue e densitometria óssea. Todos os procedimentos estavam de acordo com a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP n.º 479/04 de 15/12/2004) e da Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas da UFMG (DEPE n.º 01/05 de 19/05/2005) (Anexo 2). Após a realização de todas as etapas do estudo, as pacientes foram solicitadas a retornarem para nova consulta médica para entrega dos resultados dos exames e orientação conforme necessário. Neste estudo, somente foram incluídos os pacientes que tiveram o diagnóstico de gastrite auto-imune caracterizado pela presença sérica do anticorpo anti-célula parietal, além dos achados histopatológicos da mucosa gástrica caracterizados por atrofia da mucosa oxíntica e antro preservado.

Neste grupo foram considerados critérios de exclusão as seguintes condições:

1. Tabagismo
2. Uso de anticonvulsivantes
3. Distúrbio tireoidiano não controlado (dose estável de medicação por pelo menos seis meses antes do início do estudo)
4. Presença de úlcera péptica ativa ou em cicatrização à endoscopia digestiva alta
5. História de doença neoplásica ou síndrome de má absorção intestinal
6. Etilismo
7. Uso de vitamina D, cálcio ou seus metabólitos ativos
8. Ausência do anticorpo anti-célula parietal pela imunofluorescência indireta

6.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Uma amostra de sangue venoso foi colhida de cada paciente no Instituto Hermes Pardini, obedecendo doze horas de jejum.

Na amostra de sangue foram realizados os seguintes exames:

1. Paratormônio – método quimioluminescência, valores de referência: entre 8 e 80 pg/mL
2. Vitamina B₁₂ – método quimioluminescência, valores de referência: entre 200 e 950 pg/mL

3. Fosfatase alcalina óssea - método imunoenensaio por captura, valores de referência: entre 11,6 e 43,4 U/L
4. Cálcio iônico - método do eletrodo seletivo com correção automática para a variação do pH, valores de referência: entre 1,17 e 1,32 mmol/L
5. Fósforo - método cinético U.V., valores de referência: entre 2,5 e 4,8 mg/dL
6. Anticorpo anti-célula parietal – método imunofluorescência indireta (DTS, África do Sul), resultados foram descritos como reagente (positivo) e não reagente (negativo), sendo o ponto de corte a diluição de 1:40.
7. Hemograma - método contagem automatizada através de citometria de fluxo e hematoscopia.
8. Gastrina sérica - método do radioimunoensaio (I^{125} , contador gamma – Wizard), valor de referência: menor que 108 pg/mL. Realizada em todos os pacientes do grupo com gastrite auto-imune e em 14 pacientes do grupo 1.

6.3 ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA

Todos os exames endoscópicos foram realizados no Instituto Alfa de Gastroenterologia, sempre por profissional gastroenterologista do serviço e seguindo um mesmo protocolo. À aplicação de anestésico, para facilitar a introdução do endoscópio, seguiu-se a administração endovenosa de 2,5 mg de midazolam. Os aparelhos utilizados foram os endoscópios do Serviço de Endoscopia do Instituto Alfa de Gastroenterologia, das marcas Fujinon e Olympus, utilizando pinça padrão para biópsia endoscópica.

Foram colhidos, sempre nesta ordem, três fragmentos da mucosa antral (um distal, um proximal e um para teste da urease) e oito fragmentos da mucosa oxíntica, compreendendo quatro da grande curvatura e quatro da parede posterior. O material foi colocado em frascos separados contendo formol tamponado ou líquido de Bouin, segundo a identificação das regiões do corpo ou antro, e levados para o Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina (LPDN) imediatamente para início do processamento.

6.4 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA MUCOSA GÁSTRICA

No grupo 1 os fragmentos foram fixados em formol tamponado ou líquido de Bouin por quatro a seis horas, lavados em álcool 70% e mantidos nesta solução por 18 a 24 horas até o início do processamento para inclusão em parafina. Para esta última finalidade os fragmentos, sempre que possível, eram orientados através de exame em lupa estereoscópica Stemi SV 11 (Zeiss, Alemanha) para melhorar a obtenção de cortes histológicos de 4 µm contendo todos os elementos da mucosa gástrica, quais sejam: epitélio de revestimento, região foveolar, camada glandular e muscular da mucosa, esta última representada inteiramente ou apenas pela presença dos feixes musculares mais superficiais localizados na base da região glandular. No grupo 2 foram confeccionadas novas lâminas contendo os fragmentos de tecido gástrico a partir dos blocos de parafina existentes no Instituto Alfa de Gastroenterologia.

Todas as lâminas foram rotuladas de acordo com os registros padronizados do LPDN e separadas por região. Os cortes histológicos do antro e corpo corados pela hematoxilina e eosina (HE) de todos os pacientes foram avaliados por patologista (AJAB) quanto à presença e aos graus de inflamação, atrofia, metaplasias intestinal e pseudo-antral, seguindo-se as recomendações do sistema Sydney revisado para classificação de gastrites (DIXON *et al.*, 1996). Esta classificação atualizada recomenda a utilização de uma escala visual para gradação da atrofia, classificando-a em ausente, discreta, moderada ou intensa. A atrofia leve foi definida como perda glandular oxíntica equivalente ao terço superficial da mucosa. A rarefação glandular mais evidente, com perda de glândulas oxínticas abrangendo dois terços da mucosa examinada, estendendo-se até o colo glandular, foi considerada atrofia moderada. A atrofia acentuada foi definida como perda de todo ou quase todo componente de glândulas oxínticas, atingindo toda a espessura da mucosa e adelgaçamento da mucosa oxíntica. A avaliação da presença e intensidade de infiltrado inflamatório na mucosa antral e oxíntica através da coloração pelo HE, foi feita considerando-se os seguintes aspectos: (a) presença de polimorfonucleares e mononucleares na lâmina própria, graduando-se a intensidade em discreta, moderada e intensa; (b) distribuição do infiltrado na mucosa (superficial, metade superior, ou ocupando toda a mucosa); (c) presença de metaplasia intestinal; (d) presença da bactéria *H. pylori* (DIXON *et al.*, 1996).

6.5 AVALIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE CÉLULAS PARIETAIS DA MUCOSA GÁSTRICA

Utilizou-se para a demonstração de células parietais na mucosa oxíntica o método da imunoperoxidase indireta com anticorpo monoclonal específico (FERREIRA *et al.*, 1989; BARBOSA *et al.*, 2001). O método inclui várias etapas de incubação dos cortes com anticorpos e, finalmente, a revelação. Entre cada uma das etapas os cortes foram lavados com PBS 0,01 M. As diferentes etapas de incubação foram:

1. Tratamento dos cortes histológicos com soro normal de coelho, diluído a 1:50 em PBS-BSA 0,5%, para células parietais, e incubação das lâminas em câmara úmida por 30 minutos;
2. Tratamento dos cortes histológicos com soro monoclonal (isotipo IgG2a) 5H7H8, diluído 1:8, que reage especificamente contra células parietais de mamíferos, seguido de incubação em câmara úmida a 4°C pelo período de 18-24 horas;
3. Tratamento dos cortes histológicos com anticorpo de coelho antitimoglobulinas de camundongo, conjugado com peroxidase (Dako Corporation), diluído a 1:100 em PBS-BSA, e incubação em câmara úmida por 30 minutos;
4. Três banhos consecutivos em tampão-fosfato 0,01 M, pH 7,2, por cinco minutos cada e revelação em solução de diaminobenzidina (25 mg%) em tampão fosfato 0,01 M, pH 7,2, com 0,03% de H₂O₂, por cinco minutos, com controle ao microscópio;
5. Lavagem em tampão-fosfato 0,01 M, pH 7,2, e contra coloração com hematoxilina diluída por 30 segundos, desidratação e montagem em bálsamo do Canadá.

Posteriormente, o estudo da densidade glandular da mucosa oxíntica do grupo 1 foi realizado nas lâminas coradas para células parietais, em microscópio binocular de luz, com auxílio de ocular reticulada sempre pelo mesmo pesquisador (AMK), conforme esquema da FIGURA 3. Em cada um dos fragmentos selecionados para a contagem de células parietais, seguiu-se um mesmo procedimento: contagem das células marcadas com o anticorpo

específico dentro da abrangência de ocular reticulada que era movida perpendicularmente, a partir da base da mucosa, em direção ao epitélio superficial, no aumento de 400X. Foram contadas tantas colunas quantas foram possíveis, em cortes que apresentavam toda a espessura da mucosa. A área foi então calculada considerando-se a altura da mucosa glandular e a extensão percorrida pela ocular reticulada. Desta maneira, foi calculada a densidade de células parietais (células/ mm^2) em cada lâmina e, posteriormente, para cada paciente. No grupo com gastrite auto-imune, pela intensa atrofia da mucosa gástrica, a presença das células parietais foi avaliada pela segundo a escala padronizada no LPDN: a) presentes, numerosas; b) presentes, pequenos aglomerados; c) presentes, raras; e d) ausentes.

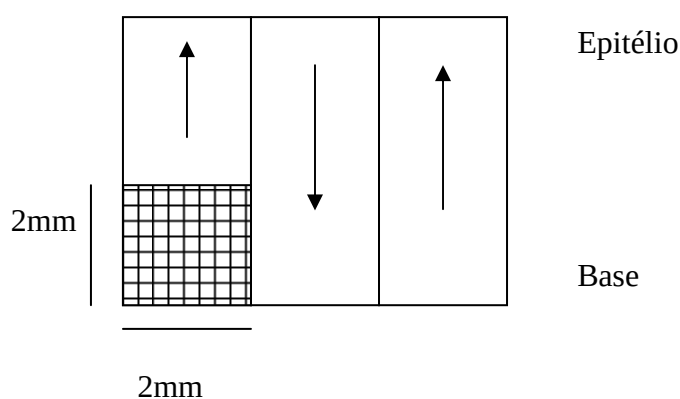


FIGURA 3. Método de contagem das células marcadas com o anticorpo específico utilizando ocular reticulada movida perpendicularmente da partir da base da mucosa ao epitélio superficial.

6.6 AVALIAÇÃO DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA

A densitometria óssea foi analisada sempre por um único profissional, tendo sido realizada sempre no mesmo equipamento Lunar Prodigy (GE Medical System, Lunar Radiation Corp., Madison, WI), e obtidas de todas as pacientes, medidas da densidade mineral óssea da coluna lombar e fêmur proximal direito, expressas em g/cm^2 e em desvios-padrão em relação à média da densidade mineral óssea da população jovem (T-score) e da população de mesma faixa etária (Z-score). O diagnóstico de osteoporose foi feito de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) (KANIS, 1994) que utiliza o valor do T-score: massa óssea normal até - 1 DP, osteopenia entre -1 e -2,5 DP, e osteoporose abaixo de - 2,5 DP.

6.7 AVALIAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *HELICOBACTER PYLORI*

O diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* foi feito considerando-se positivos pelo menos dois dos seguintes testes: método histológico, teste da urease (resultados: positivo ou negativo após 48 horas) e teste respiratório (valor de referência: 4‰). A pesquisa do *H. pylori* nos cortes de mucosa antral foi feita nos casos em que a mucosa apresentava sinais inflamatórios, em locais de epitélio gástrico íntegro e sem metaplasia intestinal. Não se encontrando a bactéria durante o exame histológico, procedeu-se a coloração pelo método Giemsa para confirmação do resultado.

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram armazenados e analisados pelo programa estatístico SPSS 12.0 (Statistical Package for Social Sciences) para Windows, Chicago, IL, USA. Para avaliação de diferenças entre frequências foram utilizados os testes do qui-quadrado, Mann-Whitney e exato de Fisher, e para avaliação de diferença entre variáveis contínuas foram utilizados os testes T de Student e Kruskal-Wallis. Também foram utilizados os testes ANOVA e de Spearman para a análise de correlação entre variáveis. O nível de significância considerado foi $p < 0,05$.

8. RESULTADOS

8.1 PACIENTES

O estudo incluiu 113 pacientes, sendo 81 (71,7%) no grupo 1 e 32 (28,3%) no grupo 2. Os 81 pacientes do grupo 1 foram atendidas ambulatorialmente e incluídas no estudo de modo consecutivo. Dos 194 casos selecionados a partir do laudo histopatológico de gastrite do corpo com mucosa antral preservada, no período de março de 2004 a março de 2006, 32 pacientes que aceitaram participar e preencheram os critérios de inclusão do estudo, foram incluídos no grupo 2. Do total, 103 (91,2%) pacientes eram do sexo feminino e 10 (8,8%) pacientes do sexo masculino. A média de idade geral foi de 59,8 anos, variando de 26 a 79 anos. Em relação à raça, 70 (61,9%) pacientes foram classificados como faíodermas, 31

(27,4%) como leucodermas e 12 (10,6%) como melanodermas. Cinco pacientes do sexo masculino, inicialmente selecionados através dos achados histopatológicos de atrofia grave da mucosa oxíntica e antro preservado, não tiveram o diagnóstico de gastrite auto-imune confirmado segundo os critérios estabelecidos para esse estudo, e foram alocados no grupo 1.

No **grupo 1** setenta e seis pacientes (93,8%) eram do sexo feminino e a média de idade para o grupo foi $62,1 \pm 8,4$ anos. Em relação à distribuição racial, 58 (71,6%) eram faiodérmicos, 17 (21%) eram leucodérmicos, e seis (7,4%) eram melanodérmicos. Em relação ao índice de massa corporal (IMC), a média foi de $26,8 \pm 4,9$ Kg/m². Considerando-se que todas as pacientes do sexo feminino tinham pelo menos cinco anos após a menopausa segundo os critérios de inclusão, a média de idade em que ocorreu a menopausa foi de $48,4 \pm 4,4$ anos e a média de tempo decorrido após a menopausa foi de $14,6 \pm 8,4$ anos. Queixas dispépticas estavam presentes em 47 (58%) dos pacientes. Vinte e sete (33,3%) pacientes relataram praticar atividade física pelo menos duas vezes por semana. Quarenta (49,4%) pacientes relataram fazer uso de pelo menos um copo de leite ao dia e 32 (39,5%) relataram não consumir ao menos um copo ao dia. Cinco (6,1%) pacientes haviam sofrido fratura de punho, e duas (2,4%) relataram fratura vertebral. Nenhuma paciente havia sofrido fratura de quadril.

No **grupo 2**, composto por pacientes com gastrite auto-imune, vinte e sete pacientes (84,4%) eram do sexo feminino e a média de idade para o grupo foi $54 \pm 14,7$ anos. Em relação à distribuição racial, 14 (43,8%) eram faiodérmicos, 12 (37,5%) eram leucodérmicos, e seis (18,8%) eram melanodérmicos. Em relação ao IMC, a média foi de $25,9 \pm 6$ Kg/m². Dezesete das 27 (63%) pacientes do sexo feminino do grupo 2 estavam no período pós-menopausa, sendo a média de idade em que ocorreu a menopausa de $48,5 \pm 4,0$ anos e a média de tempo decorrido após a menopausa de $14,2 \pm 9$ anos. Queixas dispépticas estavam presentes em 16 (50%) dos pacientes, sendo a mais comum a pirose (31,3%), seguida de empachamento pós-prandial (18,8%), e náuseas (18,8%). O diagnóstico de anemia perniciosa havia sido feito anteriormente em 23 pacientes (72%), sendo que 24 (75%) estavam em uso de vitamina B₁₂ oral ou parenteral. Dez (31,3%) pacientes tinham diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, nove (28,1%) tinham hipotireoidismo, três (9,4%) tinham *diabetes mellitus* (DM) tipo 2, e dois (6,3%) tinham vitiligo. Dez (31,3%) pacientes relataram fazer uso de pelo menos um copo de leite ao dia e 17 (53,1%) relataram não consumir ao menos um copo ao dia. Sete (21,9%) pacientes relataram praticar atividade física pelo menos duas vezes por semana. Quatro (12,5%) pacientes estavam fazendo uso regular de medicação bloqueadora da secreção ácida gástrica, sendo o omeprazol em um paciente e a ranitidina nos outros três.

Duas (6,2%) pacientes haviam sofrido fratura de punho. Nenhuma paciente relatou ter sofrido fratura vertebral ou de quadril.

Não houve diferença entre os grupos com e sem gastrite auto-imune em relação à ingestão de leite, atividade física, ou passado de fratura. Do mesmo modo, comparando-se os dois grupos, não houve diferença significativa em relação ao IMC, idade da menopausa e tempo transcorrido após a menopausa ($p > 0,05$). Em relação à idade, os pacientes do grupo com gastrite auto-imune eram mais jovens que os do grupo 1 ($p = 0,005$). Esses resultados são mostrados na TABELA 2.

TABELA 2.

Características clínicas dos 113 pacientes do presente estudo divididos segunda a ausência (Grupo 1) ou presença (Grupo 2) de gastrite auto-imune.

	Grupo 1 (n=81)	Grupo 2 (n=32)
Sexo (feminino/masculino) *	76/5	27/5
Idade (anos)**	62,1 $\pm$ 8,4	54 $\pm$ 14,7
IMC (Kg/m ²)*	26,8 $\pm$ 4,9	25,9 $\pm$ 6
Idade da menopausa (anos)*§	48,4 $\pm$ 4,4	48,5 $\pm$ 3,9
Tempo após menopausa (anos)* §	14,6 $\pm$ 8,3	14,2 $\pm$ 9

Valores expressos em média $\pm$ DP, exceto variável sexo

* $p > 0,05$, ** $p = 0,005$, testes qui-quadrado e t de student

§ Excluídos cinco pacientes masculinos em cada grupo, e excluídas 10 pacientes do sexo feminino na pré-menopausa do grupo 2.

8.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Íons, paratormônio e fosfatase alcalina óssea

As medianas cálcio iônico no grupo 1 e 2 foram 1,25 mmol/L (mínimo, 1,03 mmol/L ; máximo, 1,43 mmol/L) e 1,21 mmol/L (mínimo, 1,08 mmol/L; máximo, 1,41 mmol/L), respectivamente, $p = 0,020$.

Em relação ao fósforo, no grupo 1 a mediana encontrada foi de 3,6 mg/dL (mínimo, 2,5 mg/dL; máximo, 5,4 mg/dL) e no grupo com gastrite auto-imune, 3,6 mg/dL (mínimo, 2,7 mg/dL; máximo, 5,1 mg/dL), $p = 0,504$.

A mediana das dosagens do paratormônio para o grupo 2 foi 48,0 pg/mL (mínimo, 13,0 pg/mL; máximo, 151,0 pg/mL). Dos 32 pacientes no grupo com gastrite auto-imune, cinco apresentaram dosagem do PTH acima do valor de referência, mas em apenas uma o nível de cálcio iônico esteve acima do valor máximo de referência. A mediana das dosagens do paratormônio para o grupo 1 foi 43,0 pg/mL (mínimo, 16,0 pg/mL; máximo, 82,0 pg/mL). Em duas pacientes o nível do PTH estava acima do valor máximo de referência (menos de 1,5 vezes), mas em nenhum dos casos estiveram presentes alterações nos níveis de cálcio, fósforo ou fosfatase alcalina. As medianas dos níveis de PTH não foram estatisticamente diferentes entre os dois grupos ($p=0,468$)

Em relação à fosfatase alcalina óssea, as medianas nos grupos 1 e 2 foram 27,0 U/L (mínimo, 15,0 U/L; máximo, 63,0 U/L) e 23 U/L (mínimo, 12,0 U/L; máximo, 66,0 U/L), respectivamente, $p=0,103$.

Segundo a infecção pelo *H. pylori*, as medianas das dosagens de PTH foram: 43 pg/mL (mínimo, 17 pg/mL, máximo, 82 pg/mL) para os pacientes infectados e 43 pg/mL (mínimo, 13 pg/mL, máximo, 151 pg/mL) para os não infectados, $p=0,60$. As medianas das dosagens de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina também não foram diferentes entre os pacientes infectados e não infectados.

Hemograma

A mediana da concentração de hemoglobina no grupo 1 foi 13,7 g/dL (mínimo, 7,5 g/dL, máximo, 17,3 g/dL) e no grupo com gastrite auto-imune foi 13,2 g/dL (mínimo, 8,8 g/dL, máximo, 16,0 g/dL), $p=0,064$. Nenhum paciente no grupo com gastrite auto-imune apresentava volume corpuscular médio (VCM) igual ou acima que 100 fL; em duas pacientes do grupo 1 o VCM encontrava-se maior que 100 fL (102 e 103 fL), embora nenhuma das duas apresentasse anemia ou deficiência de vitamina B₁₂.

Vitamina B₁₂

A mediana das dosagens séricas de vitamina B₁₂ no grupo 1 foi de 388,5 pg/mL (mínimo, 157,0 pg/mL, máximo, 4408,0 pg/mL) e no grupo com gastrite auto-imune de 420,5 pg/mL (mínimo, 160,0 pg/mL, máximo, 5405 pg/mL), $p = 0,752$.

Gastrina sérica

Num subgrupo de 14 pacientes do grupo 1 com mucosa gástrica normal foi feita a dosagem do nível sérico de gastrina e a mediana encontrada foi de 75,6 pg/mL (mínimo de 20,7 pg/mL; valor máximo de 952,0 pg/mL). Entre os 32 pacientes do grupo com gastrite auto-imune, a mediana encontrada para as dosagens de gastrina foi de 207 pg/mL (mínimo de 41,4 pg/mL; valor máximo de 2720 pg/mL). A diferença entre os grupos 1 e 2 foi estatisticamente significativa ($p = 0,001$).

Anticorpo anti-célula parietal

Em conformidade com os critérios de inclusão, todos os pacientes do grupo 1 apresentaram negatividade para a pesquisa do anticorpo anti-célula parietal e todos os pacientes do grupo 2 apresentaram positividade para o referido anticorpo.

Os resultados dos exames laboratoriais estão mostrados na TABELA 3.

TABELA 3.

Resultados laboratoriais dos 113 pacientes do estudo, divididos segundo a ausência (Grupo 1) ou presença (Grupo 2) de gastrite auto-imune, valores expressos em mediana (mínimo; máximo).

	Grupo 1 n=81	Grupo 2 n=32	p
Hemoglobina (g/dL)	13,7 (7,5; 17,3)	13,2 (8,8; 16,0)	NS
Fósforo sérico (mg/dL)	3,6 (2,5; 5,4)	3,6 (2,7; 5,1)	NS
Fosfatase alcalina (U/L)	27 (15; 63)	23 (12; 66)	NS
Paratormônio (pg/mL)	43 (16; 82)	48 (13; 151)	NS
Vitamina B ₁₂ (pg/mL)	388,5 (157; 4408)	420,5 (160; 5405)	NS
Cálcio iônico (mmol/l)	1,25 (1,03; 1,43)	1,21 (1,08; 1,41)	0,02
Gastrina (pg/mL)	75,6 (21; 952) §	207 (41; 2720)	0,001

NS – não significativo, teste Mann-Whitney

§ pesquisa de gastrina sérica realizada em 14 pacientes com mucosa gástrica normal do grupo 1.

8.3 ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA

A avaliação da mucosa gástrica pelo exame endoscópico nos pacientes do grupo 1 mostrava: mucosa gástrica normal em três (3,7%) pacientes, gastrite predominantemente antral em 39 (48,1%) pacientes, pangastrite sem sinais de atrofia em 32 pacientes (39,5%), pangastrite com sinais de atrofia em um paciente (1,2%), e gastrite atrófica do corpo em sete (8,6%) pacientes. No grupo 2 avaliação da mucosa gástrica pelo exame endoscópico mostrou: mucosa gástrica normal em cinco (15,6%) pacientes, gastrite predominantemente antral em quatro (12,5%) pacientes, pangastrite sem sinais de atrofia em nove pacientes (28,1%), pangastrite com sinais de atrofia em cinco pacientes (15,6%), e gastrite atrófica do corpo em nove (28,1%) pacientes.

8.4 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA MUCOSA GÁSTRICA

A análise histopatológica das lâminas com fragmentos de tecido da mucosa gástrica oxíntica e antral dos pacientes do Grupo 1 mostrou os seguintes diagnósticos: mucosa gástrica normal em 24 (29,6%) pacientes, gastrite crônica predominantemente antral em nove (11,1%), gastrite multifocal em 46 (56,8%), e em dois (2,5%) pacientes a suspeita foi de gastrite de origem auto-imune (TABELA 4). Nesses dois últimos casos, a suspeita não foi confirmada laboratorialmente. Assim, 48 (59,3%) pacientes apresentavam mucosa oxíntica com inflamação e/ou atrofia. Encontrou-se a presença de atrofia em 32 (39,5%) pacientes, sendo leve em nove pacientes, moderada em 10 e acentuada em 13 deles (TABELA 5). Trinta e três (40,7%) pacientes apresentavam mucosa oxíntica normal, ou seja, sem atrofia ou inflamação. A metaplasia intestinal esteve presente em 12 (14,8%) pacientes, sendo discreta em nove pacientes, moderada em um, e acentuada em dois casos. A metaplasia intestinal foi mais prevalente em pacientes com atrofia acentuada da mucosa oxíntica ($p=0,007$) (TABELA 6). A metaplasia pseudo-antral foi encontrada em nove (11,1%) casos.

TABELA 4.

Diagnósticos histopatológicos da mucosa gástrica em 81 pacientes do grupo 1 segundo a classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites.

Diagnóstico histopatológico	N (%)
Mucosa gástrica normal	24 (29,6%)
Gastrite crônica predominantemente antral	9 (11,1%)
Gastrite multifocal	46 (56,8%)
Gastrite auto-imune	2 (2,5%)
Total	81 (100%)

TABELA 5.

Presença e grau de atrofia da mucosa gástrica oxíntica em 81 pacientes do grupo 1 ao diagnóstico em preparações pela hematoxilina-eosina, de acordo com a classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites.

Diagnóstico histopatológico de atrofia	N (%)
Ausente	49 (60,5%)
Atrofia mucosa oxíntica	32 (39,5%)
Atrofia leve	9 (11,1%)
Atrofia moderada	10 (12,3%)
Atrofia acentuada	13 (16,0%)

TABELA 6.

Presença de metaplasia intestinal (MI) nos 81 pacientes do grupo 1 de acordo com o diagnóstico de atrofia da mucosa gástrica oxíntica pela classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites em preparações pela hematoxilina-eosina.

	Atrofia ausente (%)	Atrofia leve (%)	Atrofia moderada (%)	Atrofia acentuada (%)	Total (%)
MI ausente	45	8	9	7	69 (85,2)
MI presente*	4	1	1	6	12 (14,8)
Total	49 (60,5)	9 (11,1)	10 (12,3)	13 (16,0)	81 (100)

*p=0,007, teste qui-quadrado

Nos 32 pacientes do grupo com gastrite auto-imune, 27 (84,4%) apresentaram avaliação histopatológica compatível com gastrite de origem auto-imune e em cinco (15,6%) o diagnóstico foi de gastrite multifocal. A atrofia gástrica da mucosa oxíntica foi avaliada como moderada em quatro (12,5%) casos e acentuada em 28 (87,5%) casos (FIGURA 4). A metaplasia intestinal esteve presente em 17 (53%) pacientes, sendo discreta em oito, moderada em sete e acentuada em dois casos. A metaplasia pseudo-antral foi encontrada em 28 (87,5%) casos, sendo discreta em 13, moderada em 10 e acentuada em cinco casos. A diferença entre a presença de metaplasia intestinal e metaplasia pseudo-antral nos grupo 1 e 2 foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$) (TABELA 7).

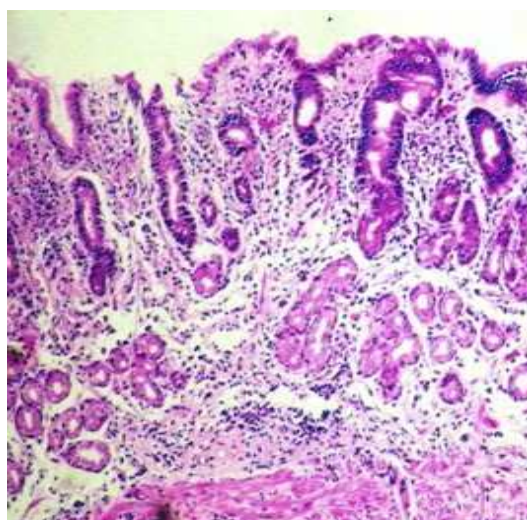


FIGURA 4. Mucosa gástrica oxíntica mostrando atrofia glandular moderada, paciente com gastrite auto-imune. HE, 50X.

TABELA 7.

Presença de metaplasia intestinal e metaplasia pseudo-antral na mucosa gástrica dos pacientes dos grupos 1 e 2, em preparações coradas pela hematoxilina-eosina.

	Grupo 1(%) n=81	Grupo 2 (%) n= 32	p
Metaplasia intestinal	12 (14,8)	17 (53)	<0,001
Metaplasia pseudo-antral	09 (11,1)	28 (87,5)	<0,001

Teste qui-quadrado

8.5 AVALIAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *HELICOBACTER PYLORI*

A concordância entre os dois métodos para avaliação da infecção pelo *H. pylori* foi de 100%. A prevalência da infecção pelo *H. pylori* no grupo 1 foi de 51,8% (42 pacientes no total de 81) e no grupo 2 foi de 9,3% (3 pacientes no total de 32), $p<0,0001$, TABELA 8.

TABELA 8.

Prevalência da infecção pelo *H. pylori* nos 113 pacientes do estudo, divididos segundo a ausência (Grupo 1) ou presença (Grupo 2) de gastrite auto-imune.

	Grupo 1	Grupo 2	Total (%)
<i>H. pylori</i> positivo*	42 (51,8)	3 (9,3)	45 (39,8)
<i>H. pylori</i> negativo	39 (48,2)	29 (90,6)	68 (60,2)
Total	81 (100)	32 (100)	113 (100)

* $p<0,001$, teste qui-quadrado

Segundo a infecção pelo *H. pylori* a presença de atrofia da mucosa oxíntica foi encontrada em 53,4% (22/42) dos pacientes infectados e em 25,6% (10/39) dos não infectados ($p=0,014$). Considerando o total de 113 pacientes, as médias das dosagens de cálcio, fósforo, PTH e fosfatase alcalina não foram diferentes entre os pacientes infectados e não infectados. Esses dados são mostrados nas TABELAS 9 e 10.

TABELA 9.

Prevalência de atrofia da mucosa oxíntica ao estudo histopatológico definida de acordo com a classificação atualizada de Sydney para o estudo das gastrites segundo a infecção pelo *H. pylori* nos 81 pacientes do grupo 1.

Atrofia mucosa oxíntica	<i>H. pylori</i> positivo	<i>H. pylori</i> negativo	Total
Presente *	22 (52,4)	10 (26,6)	32
Ausente	20 (47,6)	29 (74,4)	49
Total	42 (100)	39 (100)	81

* p=0,014, teste do qui-quadrado

TABELA 10.

Níveis séricos (média $\pm$ DP) de marcadores do metabolismo ósseo nos 113 pacientes do estudo, segundo infecção pelo *H. pylori*.

	H pylori+ (n=45)	H pylori – (n=68)	p
Fósforo sérico (mg/dL)	3,65 $\pm$ 0,65	3,6 $\pm$ 0,5	0.494
Cálcio iônico (mmol/)	1,2 $\pm$ 0,45	1,22 $\pm$ 0,6	0.131
Fosfatase alcalina (U/L)	26,8 $\pm$ 8,0	28,8 $\pm$ 11,5	0.631
Paratormônio (pg/mL)	46,4 $\pm$ 16,8	48,3 $\pm$ 28,5	0.6

Teste T de Student

8.6 AVALIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE CÉLULAS PARIETAIS DA MUCOSA GÁSTRICA

Grupo 1

A densidade média de células parietais obtida pela coloração pela imuno-histoquímica para o subgrupo de pacientes com mucosa gástrica normal foi 927 ± 185 CP/mm². Para os subgrupos de pacientes agrupados segundo a presença e grau de atrofia da mucosa oxíntica pela classificação atualizada de Sydney, a densidade média de células parietais foi

significativamente diferente ($p < 0,001$). Para averiguar diferença específica entre os subgrupos, foi aplicado o teste de comparações múltiplas de Dunnett T3 e observou-se que a diferença ocorria entre as densidades médias de células parietais do grupo sem atrofia da mucosa gástrica em relação aos grupos com atrofia moderada e intensa. As densidades de células parietais do grupo sem atrofia e do grupo com atrofia discreta da mucosa oxíntica não foram estatisticamente diferentes. Esses resultados são mostrados na TABELA 11 e no GRÁFICO 1.

TABELA 11.

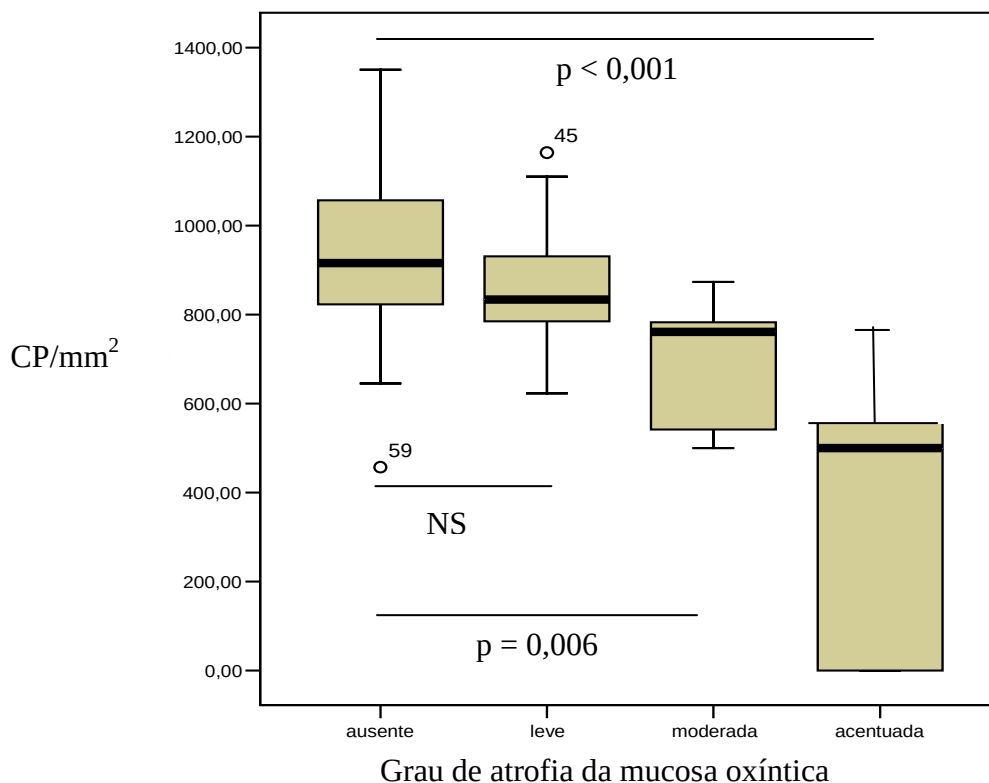
Densidade de células parietais na mucosa oxíntica em 81 pacientes do grupo 1 segundo o diagnóstico histopatológico de atrofia da mucosa gástrica oxíntica pela classificação revisada de Sydney para o estudo das gastrites.

Diagnóstico histopatológico	N (%)	Densidade células parietais (CP/mm ²)	
Atrofia ausente	49 (60,5)	927 ± 185	
Atrofia leve	9 (11,1)	870 ± 180	
Atrofia moderada	10 (12,3)	683 ± 151	p < 0,001*
Atrofia acentuada	13 (16,0)	379 ± 345	
Total	81 (100)		

* Teste de Kruskal-Wallis

GRÁFICO 1.

Gráfico-caixa (*boxplot*) - densidade de células parietais (CP/mm²) da mucosa oxíntica dos 81 pacientes do grupo 1, divididos conforme a presença e o grau de atrofia segundo a classificação de Sydney para estudo das gastrites.



Teste de comparações múltiplas Dunnett T3.

Grupo 2

A imuno-histoquímica confirmou atrofia da mucosa oxíntica em todos os 32 (100%) pacientes do grupo com gastrite auto-imune e a distribuição de células parietais remanescentes foram: presentes, numerosas em um caso (3,1%); presentes, pequenos aglomerados em cinco casos (15,6%), presentes, raras em quatro casos (12,5%), e ausentes em 22 casos (68,7%). A FIGURA 5 mostra células parietais coradas pela imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal na mucosa oxíntica gástrica.

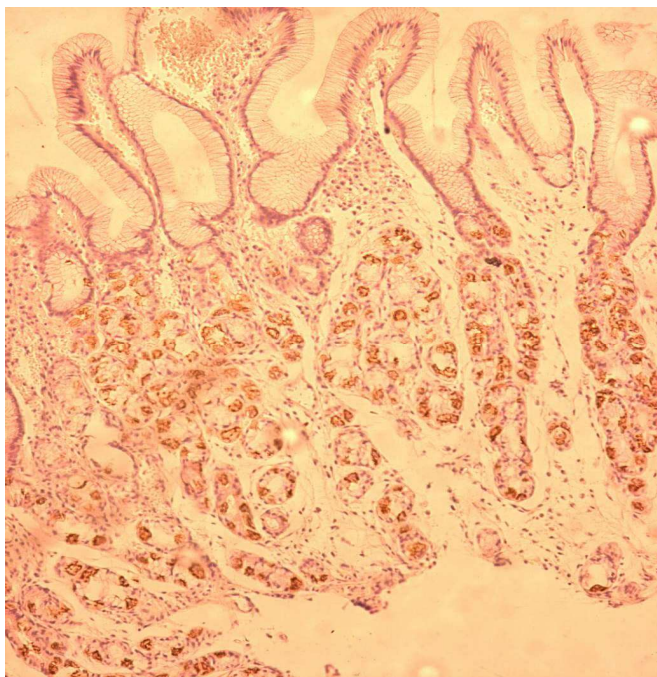


FIGURA 5. Células parietais da mucosa gástrica oxíntica em pequenos aglomerados na base da mucosa, paciente com gastrite auto-imune. Imuno-histoquímica, 50X.

8.7 AVALIAÇÃO DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA, CORRELAÇÃO COM GASTRITE AUTO-IMUNE E DENSIDADE DE CÉLULAS PARIETAIS

A densitometria óssea forneceu resultados da medida da densidade mineral óssea no fêmur e coluna lombar em números absolutos (g/cm²) e o diagnóstico de osteoporose foi feito em acordo com os critérios da OMS (KANIS, 1994) utilizando os valores de T-escore: massa óssea normal até - 1 DP, osteopenia entre -1 e -2,5 DP, e osteoporose abaixo de - 2,5 DP. Foram considerados os resultados na coluna lombar (média das primeiras quatro vértebras lombares - L1-L4), fêmur total ou colo do fêmur. Para o total de 113 pacientes, o diagnóstico de osteoporose da coluna lombar foi feito em 26 (23%) pacientes, e no fêmur total em oito (7,1%) pacientes. A TABELA 12 mostra distribuição dos diagnósticos densitométricos para os 113 pacientes do estudo segundo a localização em coluna lombar e fêmur.

TABELA 12.

Diagnósticos densitométricos em coluna lombar e fêmur pela absorciometria de raios-x de dupla energia para os 113 pacientes do estudo.

Sítio ósseo avaliado	Normal (%)	Osteopenia (%)	Osteoporose (%)	Total (%)
Coluna lombar	39 (34,5)	48 (42,5)	26 (23)	113 (100)
Fêmur	53 (46,9)	52 (46)	8 (7,1)	113 (100)

Grupo 1

No grupo 1 o diagnóstico de osteoporose da coluna lombar foi feito em 23 (28,4%) pacientes (FIGURA 4), sendo que 32 (39,5%) pacientes apresentavam osteopenia e 26 (32,1%) pacientes apresentavam densidade mineral óssea normal.

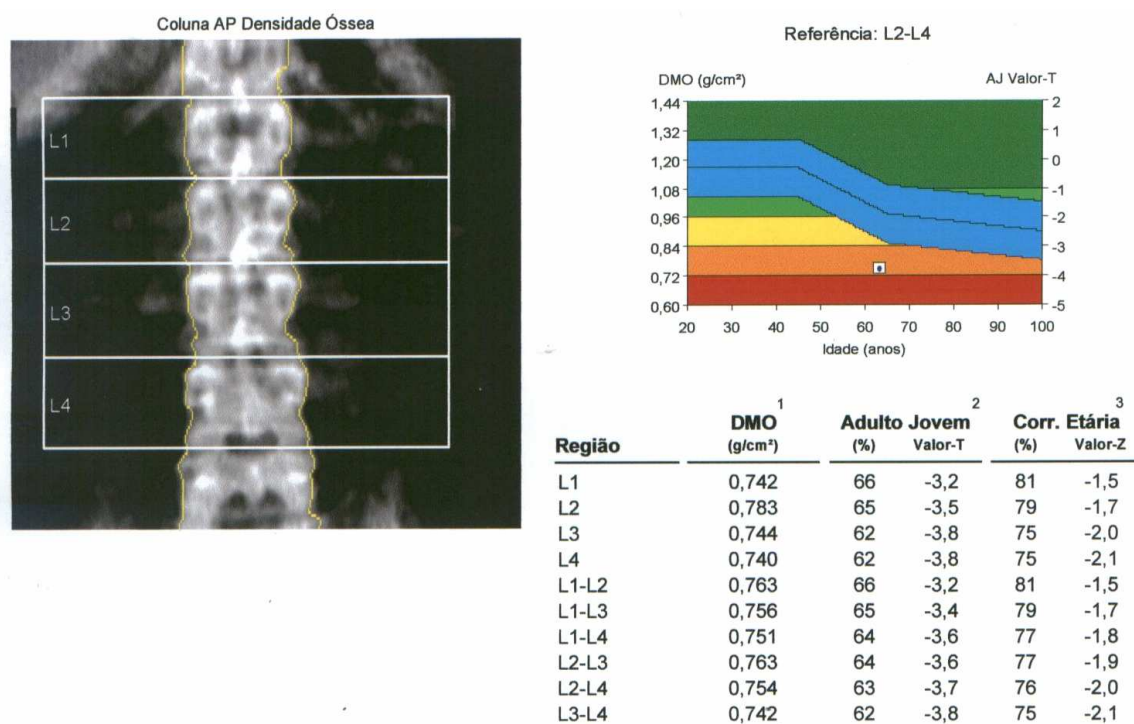


FIGURA 6. Densitometria óssea mostrando osteoporose da coluna lombar (T-escore L1-L4 - 3,6) em paciente feminino de 64 anos de idade, grupo 1.

O diagnóstico de osteoporose do fêmur foi feito em 6 (7,4%) pacientes, sendo que 39 (48,1%) pacientes apresentavam osteopenia e 36 (44,4%) pacientes apresentavam densidade mineral óssea normal. Os seis pacientes com osteoporose em fêmur também apresentavam osteoporose em coluna lombar.

A média de densidade mineral óssea na coluna lombar (L1-L4) foi de 1,011g/cm² e no fêmur total foi de 0,908 g/cm².

Grupo 2

No grupo com gastrite auto-imune o diagnóstico de osteoporose da coluna lombar foi feito em 3 (9,4%) pacientes, sendo que 16 (50%) pacientes apresentavam osteopenia e 13 (40,6%) pacientes apresentavam densidade mineral óssea normal. O diagnóstico de osteoporose do fêmur foi feito em 2 (6,2%) pacientes, sendo que 13 (40,6%) pacientes apresentavam osteopenia e 17 (53,1%) pacientes apresentavam densidade mineral óssea normal. Os dois pacientes que apresentaram osteoporose em fêmur não tinham osteoporose em coluna lombar associada.

Neste grupo com gastrite auto-imune a média de densidade mineral óssea na coluna lombar (L1-L4) foi de 1,065/cm² e no fêmur total foi de 0,930g/cm².

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os diagnósticos densitométricos e as médias de densidade mineral óssea da coluna lombar ou fêmur entre os grupos com e sem gastrite auto-imune. Também não houve diferença entre as médias de Z-escore para os dois grupos, na coluna ou no fêmur. Os resultados são mostrados nas TABELAS 13, 14 e 15.

TABELA 13.

Diagnósticos densitométricos em coluna lombar pela absorciometria de raios-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência (Grupo 1) ou presença de gastrite auto-imune (Grupo 2).

Diagnóstico densitométrico	Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)	Total (%)
Normal *	26 (32,1)	13 (40,6)	39 (34,5)
Osteopenia *	32 (39,5)	16 (50)	48 (42,5)
Osteoporose *	23 (28,4)	3 (9,4)	26 (23)
Total	81 (100)	32 (100)	113 (100)

* p > 0,05, teste qui-quadrado

TABELA 14.

Diagnósticos densitométricos em fêmur pela absorciometria de raios-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência (Grupo 1) ou presença de gastrite auto-imune (Grupo 2).

Diagnóstico densitométrico	Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)	Total (%)
Normal *	36 (44,4)	17 (53,1)	53 (46,9)
Osteopenia *	39 (48,1)	13 (40,6)	52 (46)
Osteoporose *	6 (7,4)	2 (6,2)	8 (7,1)
Total	81 (100)	32 (100)	113 (100)

* $p > 0,05$, teste qui-quadrado

TABELA 15.

Medidas da densitometria óssea (média $\pm$ DP) de coluna lombar e fêmur proximal pela absorciometria de raios-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência (Grupo 1) ou presença de gastrite auto-imune (Grupo 2).

Medida densitométrica	Grupo 1 (n=81)	Grupo 2 (n=32)
Densidade coluna lombar (g/cm^2)*	1,011 $\pm$ 0,198	1,065 $\pm$ 0,209
Z-escore lombar*	-0,34 $\pm$ 1,44	0,06 $\pm$ 1,68
Fêmur total(g/cm^2)*	0,908 $\pm$ 0,153	0,930 $\pm$ 0,139
Z-escore fêmur*	0,01 $\pm$ 1,13	-0,07 $\pm$ 0,86

* $p > 0,05$, DP = desvio-padrão, teste T de student

Em relação à infecção pelo *H. pylori*, as medidas da densitometria óssea de coluna lombar e fêmur proximal não foram entre pacientes infectados e não infectados (TABELA 16).

TABELA 16.

Medidas da densitometria óssea (média $\pm$ DP) de coluna lombar e fêmur proximal pela absorciometria de raio-x de dupla energia dos 113 pacientes do estudo segundo a ausência ou presença de infecção pelo *H. pylori*.

	<i>H. pylori</i> negativo (n=68)	<i>H. pylori</i> positivo (n=45)
Densidade coluna lombar (g/cm ²)*	1,056 $\pm$ 0,22	0,981 $\pm$ 0,16
Z-escore lombar*	-0,06 $\pm$ 1,55	-0,52 $\pm$ 1,42
Fêmur total(g/cm ²)*	0,922 $\pm$ 0,15	0,900 $\pm$ 0,14
Z-escore fêmur*	0,05 $\pm$ 1,04	-0,12 $\pm$ 1,08

* p>0,05, DP = desvio-padrão, teste T de student

Considerando-se o estado da mucosa gástrica, a densidade mineral óssea em coluna lombar e fêmur não foi diferente entre os pacientes com mucosa oxíntica sem atrofia, atrofia leve, moderada ou acentuada (TABELA 17).

TABELA 17.

Medidas da densitometria óssea (g/cm², média $\pm$ DP) de coluna lombar e fêmur proximal pela absorciometria de raio-x de dupla energia dos 113 pacientes segundo a ausência e grau de atrofia da mucosa gástrica oxíntica

Diagnóstico histopatológico	N (%)	DMO L1-L4*	DMO fêmur total*
Atrofia ausente	49 (43,3)	0,996 $\pm$ 0,164	0,913 $\pm$ 0,162
Atrofia leve	9 (8)	0,997 $\pm$ 0,219	0,889 $\pm$ 0,141
Atrofia moderada	14 (12,3)	1,023 $\pm$ 0,291	0,892 $\pm$ 0,126
Atrofia acentuada	41 (36,3)	1,050 $\pm$ 0,203	0,923 $\pm$ 0,131
Total	113 (100)		

*p >0,05, teste de Kruskal-Wallis

DMO: densidade mineral óssea

Foi feita análise para pesquisa de correlação entre densidade mineral óssea em coluna lombar (L1-L4) com diversas variáveis clínicas e laboratoriais obtidas do total de 113 pacientes do presente estudo. Inicialmente, observou-se correlação entre a densidade óssea na coluna e as variáveis densidade de células parietais, IMC, infecção pelo *H. pylori* e fosfatase alcalina óssea (TABELA 18). Utilizando o teste de regressão linear múltipla, o modelo final constatou que as variáveis densidade de células parietais, IMC e fosfatase alcalina óssea mantiveram correlação com a densidade mineral óssea na coluna lombar.

Em relação à densidade mineral óssea em fêmur (colo ou total), não foi observada correlação com qualquer das variáveis estudadas.

TABELA 18.

Valores obtidos pela análise de Correlação de Spearman para averiguação de correlação entre densidade mineral óssea (DMO) da coluna lombar, e variáveis clínicas e laboratoriais dos 113 pacientes do presente estudo.

Pares de variáveis	r	p
DMO e densidade de células parietais	-0,225	0,03
DMO e IMC	0,287	0,002
DMO e cálcio iônico sérico	-0,16	0,11
DMO e fósforo sérico	0,03	0,78
DMO e paratormônio sérico	0,01	0,94
DMO e fosfatase alcalina óssea sérica	0,34	0,001
DMO e infecção pelo <i>H. pylori</i>	-2,03	0,042
DMO e idade	-0,091	0,34
DMO e hemoglobina sangue	-0,081	0,34
DMO e vitamina B ₁₂ sérica	0,009	0,93
DMO e gastrina sérica	0,1	0,47
DMO e tempo de climatério	0,066	0,53

Teste de Spearman, r = coeficiente de correlação

9. DISCUSSÃO

Trata-se o presente trabalho, de estudo transversal que envolveu dois grupos de pacientes ambulatoriais e que pertence à linha de pesquisa do Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina (LPDN) sobre os aspectos morfológicos da mucosa gástrica e suas relações com doenças extra-digestivas. Dentro dessa linha objetivou-se relacionar duas formas freqüentes de gastrite crônica com a densidade mineral óssea. Como a osteoporose é mais prevalente nas mulheres (CUMMINGS, 2002), formou-se um grupo (grupo 1) constituído inicialmente por pacientes do sexo feminino. Embora um segundo grupo de pacientes, constituído por sua vez por pacientes com gastrite auto-imune (grupo 2), não tivesse como objetivo incluir somente pacientes do sexo feminino, ao final, 27 (84%) pacientes do total de 32 eram mulheres. A osteoporose primária é a doença osteometabólica mais comum, caracterizando-se pela perda de massa e alteração da microarquitetura ósseas, com conseqüente diminuição da resistência óssea (OSTEOPOROSIS, 2001). A conseqüência mais relevante da osteoporose é a ocorrência de fraturas, sendo as mais comuns as fraturas vertebrais, do punho e do fêmur. Um dos fatores que explicam sua maior prevalência no sexo feminino é a deficiência estrogênica do período pós-menopausa. Além disso, numerosas condições que podem cursar com perda de massa óssea e contribuir para o desenvolvimento de osteoporose secundária. O hiperparatireoidismo, o uso medicamentos como glicocorticóide e imunossupressores, insuficiência renal, doenças inflamatórias crônicas e doenças neoplásicas podem, por mecanismos diferentes, levar à diminuição da massa óssea. Com a finalidade de selecionar pacientes com osteoporose primária, além da história clínica, dosagens séricas de cálcio, fósforo, fosfatase alcalina e paratormônio foram utilizadas para avaliação do metabolismo ósseo com vistas à identificação de causas secundárias de osteoporose. Na osteoporose primária não são esperadas alterações nos níveis séricos de cálcio, fósforo, fosfatase alcalina e PTH (HEANEY, 1996). Em cinco pacientes do grupo com gastrite auto-imune o nível sérico de PTH estava elevado, todos da ordem de menos de duas vezes a referência máxima, e em apenas um caso foi encontrada hipercalcemia concomitante. No caso dessa paciente, não houve diagnóstico de osteoporose pela densitometria óssea em qualquer dos sítios estudados. Duas pacientes do grupo 1 apresentaram elevação isolada do PTH, sem diagnóstico de osteoporose. Essas pacientes foram encaminhadas à propedêutica complementar adicional para investigação de hiperparatireoidismo, e decidiu-se não excluí-las do presente estudo.

O hiperparatireoidismo primário assintomático é definido como elevação discreta dos níveis séricos de cálcio (até 1 mg para o cálcio total) e PTH (1,5 a 2 vezes o limite superior da normalidade), com fósforo sérico e calciúria de 24 horas normais, na ausência de manifestações clínicas como nefrolitíase e fraqueza neuromuscular proximal. Admite-se ainda nesses casos a ocorrência de redução discreta da massa óssea principalmente em rádio distal, onde há predominância de osso cortical, e observa-se que a massa óssea em coluna lombar tende à melhor preservação, fato atribuído a possível efeito protetor do PTH sobre o osso trabecular desta região (BILEZIKIAN, 2004). Os marcadores bioquímicos do *turnover* ósseo, à exceção da fosfatase alcalina óssea, não foram utilizados no presente estudo. Esses marcadores são importantes na prática clínica por permitirem, em pacientes em tratamento para osteoporose, comprovação da mudança do perfil do metabolismo ósseo antes que a densitometria óssea ser capaz de fazê-lo. Para fins de diagnóstico da osteoporose, o emprego dos marcadores bioquímicos de *turnover* ósseo ainda encontra limitações, como baixas sensibilidade e especificidade (SARAIVA, 2002).

O grupo com gastrite auto-imune foi formado a partir de laudos de biópsias endoscópicas que mostravam atrofia da mucosa do corpo com antro preservado ou com alterações histológicas mínimas, cujo objetivo foi selecionar exclusivamente casos de gastrite auto-imune (tipo A). Dos 194 casos selecionados a partir desse critério, entre os anos de 2004 a 2006, o número de pacientes finalmente estudados foi de 32. Como elegemos a ausência do anticorpo anti-célula parietal como critério de exclusão para os pacientes do grupo com gastrite auto-imune, é possível que o número de pacientes neste grupo tenha sido menor, uma vez que esse marcador pode não estar presente em 10 a 30% dos casos de anemia perniciosa (CHAN *et al.*, 2006). A presença do anticorpo anti-fator intrínseco, apesar de mais específico para anemia perniciosa, não foi utilizado neste estudo, pois ocorre em menor prevalência e sua presença parece não determinar diferenças clínicas no curso da doença (ALLEN, 2000; ZITTOUN, 2001). O teste de Shilling também não foi utilizado para a confirmação do diagnóstico etiológico dos casos suspeitos de gastrite auto-imune, pois necessita de amostra de urina de 24 horas, e não é atualmente disponível na prática clínica rotineira.

Em relação às características clínicas, 50% dos pacientes do grupo com gastrite auto-imune apresentavam queixas dispépticas variadas, e a pirose foi a mais freqüente delas. Considerando a gravidade da atrofia gástrica neste grupo, esse achado é notável, uma vez que a pirose se relaciona com a secreção ácida gástrica, o que não seria esperado nesses pacientes. No trabalho de CHAN *et al.* (2006), que descreve 181 pacientes chineses com anemia

perniciosa, 10% dos pacientes apresentavam sintomas gastrintestinais embora não tenha sido feita discriminação sobre a natureza dos sintomas.

De interesse foi o fato de que os diagnósticos endoscópicos dos pacientes do grupo com gastrite auto-imune estiveram distribuídos em diferentes resultados, incluindo mucosa gástrica normal, gastrite predominantemente antral e pangastrite com e sem sinais de atrofia. Em menos de 30% dos casos a suspeita à endoscopia foi de gastrite auto-imune. Mesmo após a avaliação histopatológica, 15,6% dos casos ainda não puderam ser confirmados como gastrite do tipo A. Após a utilização da imuno-histoquímica para coloração de células parietais demonstrou-se de forma objetiva a acentuada atrofia da mucosa gástrica, em quase 70% dos casos o resultado foi ausência de células na mucosa oxíntica.

A osteoporose é uma doença sistêmica silenciosa e seus sintomas se manifestam quase exclusivamente pela ocorrência de fraturas ósseas. Estima-se que um terço das mulheres após a menopausa terão a doença e que o risco de fratura óssea ao longo da vida após os 50 anos seja de 14% (NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2001). A prevalência de osteoporose na coluna lombar nesse grupo de 113 pacientes de ambos os grupos em conjunto, foi de 23% (26/113 pacientes), resultado este compatível com aquela descrito pela literatura, cuja estimativa é a ocorrência em 30% das mulheres após a menopausa (MELTON, 1995; PINHEIRO, 2006).

Várias doenças gastrintestinais se relacionam a distúrbios do metabolismo ósseo (SYLVESTER, 1999). Até 50% dos pacientes com doença celíaca e 41% daqueles com doença de Crohn podem apresentar diminuição da massa óssea em relação à população controle (SCOTT *et al.*, 2000, LORA *et al.*, 2005). Ainda em relação a causas ligadas ao tubo digestivo, evidências experimentais, epidemiológicas e clínicas têm relacionado o estômago à osteoporose, embora os mecanismos responsáveis pela baixa massa óssea ainda não estejam completamente esclarecidos (EDDY, 1971, PERSSON *et al.*, 1989, BISBALLE *et al.*, 1991, HEISKANEN *et al.*, 2001, ADACHI *et al.*, 2000). Levando-se ainda em consideração as evidências de que a mucosa gástrica seria sede produtora de peptídeo com capacidade de interferir favoravelmente no metabolismo ósseo (PERSSON *et al.*, 1989), todos esses dados motivaram o estudo da possível relação entre diferentes graus de atrofia gástrica e massa óssea. Como a gastrite auto-imune caracteriza-se por acentuada atrofia da mucosa oxíntica decidiu-se incluir esse grupo de pacientes no presente estudo, para que pudesse então ser avaliada a massa óssea em pacientes com mucosa gástrica normal e com diferentes graus de atrofia gástrica, incluindo aqueles com atrofia extrema.

Uma das doenças mais importantes associada à atrofia grave da mucosa do corpo gástrico é a anemia perniciosa. Anemia perniciosa é um termo que define e se aplica exclusivamente à presença de anemia megaloblástica causada por gastrite crônica atrófica de origem auto-imune (TOH *et al.*, 1997). Embora os trabalhos levantem evidências de maior prevalência de osteoporose e fraturas ósseas em pacientes com anemia perniciosa (EASTELL *et al.*, 1992, GOERSS *et al.*, 1992), deve-se ressaltar que não há descrição sobre achados histopatológicos da mucosa gástrica desses pacientes, levantando dúvidas sobre a presença de gastrite auto-imune. A evolução da gastrite auto-imune é lenta e assintomática, com o aparecimento das manifestações hematológicas ocorrendo ao longo de 20 a 30 anos. Caso não ocorram fraturas ósseas, pacientes com osteoporose também evoluem de maneira assintomática, e, portanto, estudos que visem aos possíveis mecanismos evolutivos relacionando as duas patologias são de difícil condução. Do nosso conhecimento, até o presente momento, esse é o primeiro estudo que tenta relacionar a densidade mineral óssea à gastrite auto-imune.

Apesar da deficiência do fator intrínseco resultante da atrofia gástrica de origem auto-imune ser a principal causa de deficiência de vitamina B₁₂, níveis séricos dessa vitamina abaixo do normal não devem ser utilizados como único critério para o diagnóstico de anemia perniciosa, pois podem ocorrer em indivíduos em dieta estritamente vegetariana, idade avançada, má-absorção induzida por droga, deficiência de transcobalamina II (ALLEN, 2000, COHEN *et al.*, 2000). Por sua vez, a presença do anticorpo anti-célula parietal em títulos abaixo de 1:10, pela imunofluorescência, também pode ocorrer em 2% dos indivíduos abaixo de 20 anos e em até 16% daqueles acima de 60 anos, em parentes de pacientes com anemia perniciosa, ou em indivíduos portadores de outros distúrbios auto-imunes, como a tireoidite auto-imune (UNIVERSITY OF WASHINGTON, 1996, CAPELLA *et al.*, 1999). O ponto de corte para o anticorpo anti-célula parietal utilizado neste estudo foi de 1:40, tornando pouco provável a ocorrência de falsos positivos.

Embora o critério de inclusão dos pacientes no estudo tenha sido a presença de gastrite predominante do corpo gástrico em associação ao anticorpo anti-célula parietal sérico, e não tenhamos utilizado o anticorpo anti-fator intrínseco, essa diferença sorológica parece não corresponder a diferenças clínicas ou evolutivas na anemia perniciosa. Portanto, permite-se inferir os resultados desse estudo para pacientes cujo marcador seja somente o anticorpo anti-fator intrínseco. Deve-se ainda considerar que foram feitas análises comparativas para a densidade mineral óssea tanto em coluna lombar quanto em fêmur, regiões que apresentam

diferentes suscetibilidades para perda óssea, não tendo sido encontrada diferença em qualquer dos dois locais.

Ao contrário do que indicam os dados da literatura sobre a relação densidade mineral óssea e anemia perniciosa, não foi possível constatar diferença estatisticamente significativa na média de densidade mineral óssea entre os grupos 1 e 2, como também não houve diferença entre os diagnósticos densitométricos entre os grupos. Assim, não pudemos associar a atrofia gástrica à diminuição na massa óssea. No estudo de MELLSTRON *et al.* (1993), os resultados mostraram diminuição da massa óssea em pacientes submetidos à gastrectomia parcial em relação aos controles, e a endoscopia digestiva alta realizada em 78 pacientes após a cirurgia evidenciou a presença de gastrite atrófica em 76 deles. O longo tempo decorrido após a cirurgia (média de 28,5 anos) e a maior média de idade em relação aos pacientes do presente estudo, podem sugerir que mais tempo de observação seja necessário para que alguma influência decorrente da atrofia gástrica sobre a massa óssea possa ser detectada.

Deve ser considerado que o grupo de pacientes com gastrite auto-imune apresentava média de idade menor do que o grupo 1 e, das 27 pacientes do sexo feminino no grupo com gastrite auto-imune, dez ainda não tinham passado pela menopausa. Como os pacientes do grupo gastrite auto-imune eram mais jovens que os do grupo 1, fizemos a comparação entre os escores Z, medida que corresponde ao desvio-padrão em relação à média da densidade óssea na população normal de mesma idade e útil para a suspeição de causas secundárias de baixa massa óssea. Não houve diferença entre o Z-escore em fêmur ou coluna lombar entre os grupos 1 e 2.

Devido à reserva corporal de cobalamina, as manifestações clínicas de sua deficiência têm início após longo período de interrupção da secreção do fator intrínseco pelas células principais do estômago. A deficiência da vitamina B₁₂ representa o estágio final das alterações da mucosa gástrica na gastrite auto-imune, cujas características histopatológicas e presença dos auto-anticorpos podem predizer a ocorrência das manifestações hematológicas. Embora existam evidências a respeito da correlação entre deficiência de vitamina B₁₂ e anemia perniciosa com diminuição da densidade mineral óssea e maior risco de fraturas, não encontramos até o momento estudos sistemáticos sobre a possível relação entre o grau de atrofia da mucosa gástrica e a densidade mineral óssea. Desta forma, o estudo sobre existência de influência de alterações histopatológicas da mucosa gástrica sobre o metabolismo ósseo poderia contribuir para a expansão do conhecimento sobre a fisiopatologia da osteoporose secundária às doenças gástricas de um modo geral e, no futuro, possivelmente permitir o estabelecimento de terapêutica preventiva para esses pacientes.

Ainda que 23 pacientes tivessem diagnóstico prévio de anemia perniciosa, sugerindo a presença de atrofia gástrica por longo período, a massa óssea dos pacientes com gastrite auto-imune não foi diferente dos pacientes do grupo 1. Considerando também o fato de que 24 pacientes do grupo com gastrite auto-imune estivessem em uso de reposição de vitamina B₁₂, os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos em relação à mediana das dosagens de vitamina B₁₂ e hemoglobina, embora essa última tenha sido discretamente menor no grupo com gastrite auto-imune.

A mediana dos níveis de cálcio sérico encontrada no grupo com gastrite auto-imune foi menor que a do grupo 1, o que poderia sugerir prejuízo da absorção deste íon em decorrência da grave deficiência da secreção ácida. Como a densidade mineral óssea não foi diferente entre os grupos, sugere-se que o longo período de acloridria não tenha sido capaz de influenciar negativamente, pelo menos de forma evidente, o metabolismo ósseo. Como a dosagem de cálcio isoladamente não é suficiente para avaliar o perfil metabólico ósseo, a afirmação anterior encontra respaldo no fato de que as médias das medidas séricas de PTH, fosfatase alcalina e fósforo não foram diferentes nos dois grupos. O estudo de CARMEL *et al.* (1988) mostrou que os níveis de fosfatase alcalina óssea eram mais baixos em pacientes com deficiência de vitamina B₁₂ quando comparados aos controles, e que os níveis dessa enzima se elevaram após a reposição da cobalamina. Neste presente estudo envolvendo pacientes com e sem gastrite auto-imune, não houve correlação entre os níveis séricos de fosfatase alcalina e vitamina B₁₂. Como muito pacientes estivessem em uso de vitamina B₁₂ exógena, também se demonstrou que os níveis de fosfatase alcalina não foram diferentes entre os dois grupos.

Sabe-se que a anemia perniciosa demonstra associação com uma série de outras doenças auto-imunes, como hipotireoidismo, diabetes mellitus tipo 1, vitiligo, Síndrome de Sjogren, e hipoparatiroidismo, entre outras (CAPELLA *et al.*, 1999). Neste grupo de pacientes aqui estudados com gastrite auto-imune, nove (28,1%) dos pacientes apresentaram diagnóstico de hipotireoidismo associado, e três (9,4%) tinham *diabetes mellitus* tipo 2. Sabe-se que em pacientes com hipertireoidismo descompensado ou em uso excessivo de tiroxina exógena, portanto com elevado nível circulante de hormônio tireoidiano, há perda de massa óssea. Embora tenha sido encontrada elevada prevalência de hipotireoidismo no grupo com gastrite auto-imune, admitiu-se como critério de inclusão e com a finalidade de minimizar possível influência negativa sobre a massa óssea, a estabilidade da dose de tiroxina nos últimos seis meses. Em relação ao *diabetes mellitus*, os estudos são controversos (VAN DAELE *et al.*, 1995, TUOMINEN *et al.*, 1999). A hiperglicemia e a conseqüente glicosúria podem levar ao aumento da excreção renal de cálcio, resultando em balanço negativo do íon

e, ao mesmo tempo, a deficiência relativa ou absoluta de insulina poderia ocasionar perda de seu efeito anabólico sobre o esqueleto. Por outro lado, a obesidade e a hiperinsulinemia das fases iniciais do DM tipo 2 podem associar-se à maior massa óssea. No presente trabalho a media do índice de massa corporal não foi significativamente diferente entre os dois grupos.

Em relação ao *H. pylori*, no presente trabalho, os resultados não demonstraram associação entre infecção pelo *H. pylori* e densidade mineral óssea. O *H. pylori* infecta mais da metade da população mundial e tem sido relacionado a um numero cada vez maior de doenças extra-intestinais (BOHR, 2007). O resultado final da infecção é resultado da complexa interação entre a bactéria e o microrganismo, o que tem como possível consequência, além da atrofia da mucosa gástrica no estômago, alterações no sistema imune inato e adaptativo (D'ELIOS, 2007). Considerando que a osteoporose é uma doença sistêmica, o desequilíbrio imunológico da infecção pelo *H. pylori* poderia influenciar negativamente a remodelação óssea. Em verdade, apenas poucos estudos estão disponíveis na literatura. Embora FIGURA *et al.* (2001) tenham mostrado aumento no risco de osteoporose em homens infectados pelo *H. pylori*, no estudo de OZDEM *et al.* (2007), a infecção pelo *H. pylori* em crianças não determinou alterações nos marcadores bioquímicos. Em estudo prévio em 50 mulheres na pós-menopausa, a infecção pelo *H. pylori* também não se associou à diminuição da massa óssea (KAKEHASI *et al.*, 2007).

A possível relação entre o *H. pylori* e a densidade mineral óssea poderia se dar pela produção de citocinas inflamatórias durante o curso da infecção e seus efeitos sobre a remodelação óssea. A IL-8 é uma importante citocina inflamatória produzida em decorrência da infecção pelo *H. pylori* com potenciais efeitos sobre osteoblastos e osteoclastos. O trabalho de ANGELETTI *et al.* (1998) mostrou que a incubação de células da paratireóide com moléculas recombinantes de IL-8 causava o aumento nos níveis de RNAm do paratormônio, podendo ser essa uma das vias de ligação entre processo inflamatório e diminuição de massa óssea. Assim considerando, pudemos observar que no presente estudo os níveis de paratormônio não foram diferentes entre os pacientes infectados e não-infectados pelo *H. pylori*.

FIGURA *et al.* (2005) encontraram menor nível de estradiol em homens infectados pelo *H. pylori* Cag-A positivos em relação aos não infectados ou infectados pela cepa Cag-A negativa. Apesar das evidências de que as células parietais secretam estrógeno a partir da conversão de progesterona e testosterona (UEYAMA *et al.*, 2002, UHEYAMA *et al.*, 2004), no estudo experimental de UHEYAMA *et al.* (2002), ainda que as células parietais expressassem atividade aromatase, enzima responsável pela síntese de estrógeno, a gastrectomia não alterou

os níveis sistêmicos desse hormônio, sugerindo-se que não fosse esse o fator de ligação entre a mucosa gástrica e o metabolismo ósseo.

Como gastrite auto-imune e a gastrite associada à infecção pelo *H. pylori* são causas importantes de atrofia da mucosa gástrica, a comparação da densidade mineral óssea em coluna lombar e fêmur nos pacientes com mucosa oxíntica normal e com diferentes graus de atrofia da mucosa gástrica não mostrou diferença significativa.

Em verdade, a densidade mineral óssea se relacionou de forma inversa com a densidade de células parietais. A análise para investigar relação entre densidade mineral óssea na coluna lombar e no fêmur com diferentes variáveis pesquisadas nos 113 pacientes em conjunto mostrou correlação inversa entre densidade mineral óssea na coluna lombar (L1-L4) e densidade de células parietais. Ou seja, quanto maior a densidade de células parietais na mucosa oxíntica, menor a densidade óssea na coluna lombar. Houve correlação direta da densidade mineral óssea na coluna lombar (L1-L4) com a fosfatase alcalina óssea sérica e o IMC. As outras variáveis com possibilidade de influenciar a massa óssea, como idade, sexo, infecção pelo *H. pylori*, vitamina B₁₂, tempo de climatério, cálcio, fósforo, e PTH foram testadas, e os resultados não mostraram significância estatística.

Uma das possibilidades que se apresenta para explicar a correlação inversa entre densidade de células parietais e massa óssea, seria alteração na população de células endócrinas na mucosa oxíntica. A hiperplasia reacional de células endócrinas da mucosa do corpo gástrico pode ocorrer em situações de hipergastrinemia, como aquela que acompanha a gastrite atrófica auto-imune, embora o início de hipergastrinemia ou o comportamento dos níveis séricos ao longo do tempo ainda não estejam muito claramente esclarecidos (DELLE FAVE, 2002). Os trabalhos experimentais sobre possível fator produzido na mucosa oxíntica gástrica com influência sobre o metabolismo ósseo, denominada gastrocalcina, trouxeram novas possibilidades de investigação das relações entre estômago e metabolismo ósseo, uma vez demonstrado que esse peptídeo com função hormonal osteotrópica seria produzido pelas células ECL. Portanto, a hiperplasia células endócrinas que ocorre na gastrite atrófica auto-imune poderia influenciar a massa óssea dos pacientes acometidos. Nesta linha de pensamento, a massa óssea de indivíduos com hiperplasia receberia maior estímulo à formação e a densidade mineral óssea seria, inclusive, maior neste grupo.

Do nosso conhecimento esse é o primeiro estudo que tenta correlacionar a gastrite auto-imune à densidade mineral óssea, mas os resultados aqui apresentados não permitem declarar os diferentes graus de atrofia da mucosa gástrica ou a infecção pelo *H. pylori* como fatores associados à diminuição da massa óssea.

Outro resultado de interesse obtido no presente trabalho, foi a quantificação objetiva das células parietais da mucosa oxíntica. Julgamos que a quantificação das células parietais através da coloração pela imuno-histoquímica utilizada nesse estudo seja maneira objetiva de avaliação do componente glandular da mucosa oxíntica, e que o método poderia também auxiliar no estudo da relação da atrofia da mucosa gástrica com outras doenças ou condições de impacto na saúde dos indivíduos.

A análise histopatológica é o método disponível mais acurado para o diagnóstico da gastrite crônica, atrofia gástrica, metaplasia intestinal e neoplasia gástrica. Mesmo assim, no diagnóstico da atrofia da mucosa gástrica ainda persistem problemas, como a variação inter-observador (EL-ZIMAITY *et al.*, 1996). A concordância entre observadores é satisfatória nos graus mais graves de atrofia, mas para casos leves e moderados a discordância é grande (RUIZ *et al.*, 2001). Em consequência, inúmeros trabalhos têm sido conduzidos na tentativa de se estabelecer consenso para o diagnóstico e gradação da atrofia da mucosa gástrica, e, ainda mais, em busca de definições a respeito do acompanhamento e intervenção em pacientes com maior risco para câncer gástrico. Diante das dificuldades no reconhecimento e gradação da atrofia gástrica e uma vez que se reconhece sua relação com a neoplasia gástrica, justifica-se o estudo de métodos que visem à identificação mais precisa dos diferentes graus de atrofia gástrica, e que possam ser capazes de auxiliar na validação de outros métodos não invasivos para uso em diferentes populações. Nesse trabalho, a densidade de células parietais foi estatisticamente diferente para os grupos de pacientes com mucosa gástrica normal, atrofia moderada e acentuada, não sendo possível distinguir com significância estatística os casos leves de atrofia da mucosa do corpo dos casos com mucosa gástrica normal. Nosso resultado está em acordo com aquele de VAN GRIEKEN *et al.* (2001), que propõem, inclusive, modificação na classificação de Sydney para os diferentes graus de atrofia oxíntica ao unir os diagnósticos histopatológicos de atrofia ausente e discreta, passando a considerar somente três classes: ausente, moderada e acentuada.

Com a demonstração que os níveis séricos de pepsinogênio se relacionavam com a extensão da atrofia gástrica (BORCH *et al.*, 1989), e quando nos anos 90 kits comerciais para sua mensuração tornaram-se disponíveis, programas populacionais japoneses de *screening* passaram a associar esse marcador sérico às doenças associadas à atrofia da mucosa gástrica, principalmente casos precoces de câncer gástrico (OHATA *et al.*, 2005). A utilização dos níveis séricos de pepsinogênio como marcador de atrofia gástrica em nível rotineiro encontra dificuldades, algumas próprias ao nosso meio. Na meta-análise de DINIS-RIBEIRO *et al.* (2004), os autores declaram não ter sido possível estabelecer o melhor ponto de corte para o

pepsinogênio sérico em virtude da baixa concordância entre endoscopistas e patologistas em relação à presença e gradação da atrofia gástrica.

Outra dificuldade da utilização do pepsinogênio é que pacientes em uso de medicações que interfiram com a função gástrica, como os anti-inflamatórios não-hormonais e os inibidores da bomba de prótons foram excluídos das análises estatísticas (OHATA *et al.*, 2005). No estudo de SITAS *et al.* (1993), pacientes com diagnóstico de úlcera péptica foram excluídos. Adicionalmente, sabe-se que a infecção pelo *H. pylori* eleva os níveis de PGI e PGII, enquanto diminui a relação PGI/PGII (KUIPERS *et al.*, 1996), explicando porque a relação PGI/PGII apresenta maior sensibilidade e especificidade do que a medida isolada do PGI, fato que, por outro lado, aumenta os custos da propedêutica não invasiva de atrofia da mucosa gástrica. Adicionalmente, IJIMA *et al.* (2005) mostraram que em pacientes não infectados pelo *H. pylori* somente a dosagem isolada do PGI se relacionou com a taxa de secreção ácida. Esses dados sugerem que ao utilizarmos os níveis séricos de PG I e II para avaliação de atrofia gástrica, a presença ou ausência do *H. pylori* deve ser também considerada. Em nosso meio não há disponibilidade de kit para dosagem do pepsinogênio em escala comercial dentro de custo razoável para seu emprego em escala populacional, característica inerente à qualquer método propedêutico quando empregado com finalidade de rastreamento.

Vários trabalhos tiveram como objetivo associar a pesquisa para infecção pelo *H. pylori* às dosagens séricas de pepsinogênio como possível marcador adicional de atrofia gástrica (SITAS *et al.*, 1993, WATABE *et al.*, 2005, CAO *et al.*, 2007), mas considerando que mais da metade da população está infectada, e que apenas um pequeno número desses indivíduos evoluirão para o câncer gástrico, não foi inesperado o fato de que essa combinação, embora aumentasse a sensibilidade, acarretou grande perda na especificidade. Além do que, a presença da infecção não determinou mudança na conduta dos indivíduos com níveis séricos de pepsinogênio abaixo do normal, uma vez que o exame endoscópico esteve indicado em todos pacientes com atrofia da mucosa gástrica, independente da presença da bactéria (OHATA *et al.*, 2004, WATABE *et al.*, 2005).

O presente estudo avalia de maneira objetiva a população de células parietais da mucosa oxíntica de pacientes com mais de 50 anos, em sua maioria mulheres na pós-menopausa. Foi possível estimar a densidade de células parietais em 49 pacientes nesta faixa etária com mucosa gástrica normal, de 927 ± 185 CP/mm². Os resultados desse estudo podem ter importante impacto ao representar o início do estudo da utilidade deste método imuno-

histoquímico como ferramenta para a validação do parâmetro de normalidade dos níveis séricos de pepsinogênio em grupos populacionais.

Em relação aos demais marcadores séricos descritos para identificação de atrofia da mucosa gástrica, como gastrina (OKSANEN *et al.*, 2000), IL-8 (SANDULEANU *et al.*, 2003), ou mesmo a ghrelina (CHECCI *et al.*, 2007), os estudos utilizaram a classificação de Sydney para o estudo das gastrites como padrão de comparação do estado da mucosa gástrica. Considerando a variabilidade no reconhecimento e gradação de atrofia por esse método, a medida exata da massa de células parietais poderia ser útil como padrão mais confiável para o estudo da aplicação e validação de medidas não invasivas do grau de atrofia da mucosa gástrica.

De outra maneira, o método da imuno-histoquímica também pode ser útil na determinação ou confirmação de casos suspeitos de atrofia gástrica, como demonstrado no estudo da mucosa gástrica de pacientes com gastrite auto-imune do presente estudo, em que a avaliação histopatológica isoladamente não havia permitido a visualização tão nítida da grave atrofia da mucosa do corpo gástrico presente nesses indivíduos.

Concluindo, a respeito do método de quantificação das células parietais utilizado nesse trabalho, parece ser possível um diagnóstico mais preciso dos graus de atrofia da mucosa gástrica nas gastrites crônicas, com ênfase no fato de não ter sido possível separar casos leves daqueles com mucosa normal. Assim, como a atrofia se relaciona ao câncer gástrico, o método da coloração das células parietais pela imuno-histoquímica também poderá ser útil para estudos nesta área.

10. CONCLUSÕES

- As densidades minerais ósseas na coluna lombar e no fêmur proximal não foram diferentes entre os pacientes com gastrite auto-imune e com gastrite infecciosa.
- A presença de atrofia da mucosa gástrica oxíntica, não se correlacionou com diminuição da densidade mineral óssea em coluna lombar e fêmur proximal.
- A infecção pelo *Helicobacter pylori* não determinou diminuição da massa óssea ou alterações nas concentrações dos marcadores de metabolismo ósseo avaliados nos pacientes do presente estudo.
- A densidade de células parietais obtidas pela imuno-histoquímica através da coloração específica dessas células forneceu resultados quantitativos mais precisos do que aqueles habitualmente observados nas preparações rotineiras coradas pela Hematoxilina-Eosina.
- A imuno-histoquímica através da coloração específica das células parietais com anticorpos monoclonais forneceu resultados objetivos da densidade de células parietais em pacientes do sexo feminino com mais de 50 anos e com mucosa oxíntica histologicamente normal, em média 927 ± 185 CP/mm².
- Diferentemente da Classificação de Sydney utilizada em preparações histológicas rotineiras que classifica o grau de atrofia da mucosa gástrica em ausente, leve, moderada e acentuada, neste trabalho, a avaliação objetiva do grau de atrofia da mucosa gástrica não mostrou diferença significativa entre as densidades de células parietais obtidas para a mucosa não atrófica e para a mucosa gástrica com grau discreto de atrofia.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADACHI,Y., *et al.* Bone mineral density in patients taking H₂-receptor antagonist. **Calcified Tissue International**, Nova Iorque, vol.62, n.4, p.283-285, 1998.

ADACHI,Y., *et al.* Osteoporosis after gastrectomy: bone mineral density of lumbar spine assessed by dual-energy X-ray absorptiometry. **Calcified Tissue International**, Nova Iorque, vol.66, n.2, p.119-122, 2000.

ALLEN,R.H. Megaloblastic anemias. In: GOLDMAN, Lee, BENNET, J.Claude. **Cecil Textbook of Medicine**. 21^aed. Philadelphia: Saunders, 2000. Cap.163, p.859-867.

ANDERSON,D.M., *et al.* A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. **Nature**, Londres, vol.90, n.6656, p.175-179, 1997.

ANDERSSON,N., *et al.* Drug-induced prevention of gastrectomy- and ovariectomy-induced osteopaenia in the young female rat. **Journal of Endocrinology**, vol.175, n3, p.695-703, 2002.

ANDRÈS,E., *et al.* Vitamin B₁₂ (cobalamin) deficiency in elderly patients. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, vol.171, n.3, p.251-9, 2004.

ANGELETTI,R.H., *et al.* The Chemokine Interleukin-8 Regulates Parathyroid Secretion. **Journal of Bone and Mineral Research**, Durham, vol.13, p.1232-1237, 1998.

ANNIBALE,B. *et al.* Gastrointestinal causes of refractory iron deficiency anemia in patients without gastrointestinal symptoms. **The American Journal of Medicine**, vol.111, n.6, p.439-445, 2001.

ARAÚJO-FILHO,I. *et al.* Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in advanced gastric carcinoma. **Arquivos de Gastroenterologia**, Ribeirão Preto, vol.43, n.4, p.288-292, 2006.

ASAKA,M. *et al.* Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in Japan: results of a multicenter study. **Helicobacter**, Oxford, vol.6, p.294-299, 2001.

ATHERTON,J.C. *H. pylori* virulence factors. **British Medical Bulletin**, vol.54, n.1, p.105-20, 1998.

BAINES,M. *et al.* The association between cysteine, bone turnover, and low bone mass. **Calcified Tissue International**, vol.81, p.450-454, 2007.

BARBOSA,A.J., *et al.* Increased parietal cell density in patients with perforated duodenal ulcer: comparison with non-complicated duodenal ulcer patients. **Gastroenterology**, Amsterdam, vol.120, p.A1300, 2001.

BARRET-CONNOR,E. The economics and human costs of osteoporotic fracture. **American Journal of Medicine**, vol.98, p.3-8, 1995.

BAUER,D.C., *et al.* Factors associated with appendicular bone mass in older women. The study of Osteoporotic Fractures Research Group. **Annals of Internal Medicine** vol.118, p.657-665, 1993.

BILEZIKIAN,J.P., SILVERBERG,S.J. Asymptomatic primary hyperparathyroidism. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, vol.350, p.1746-1751, 2004.

BISBALLE,S. *et al.* Osteopenia and osteomalacia after gastrectomy: interrelations between biochemical markers of bone remodelling, vitamin D metabolites, and bone histomorphometry. **Gut**, Londres, vol.32, n.11, p.1303-7, 1991.

BODGER,K., *et al.* Interleukin 10 in *Helicobacter pylori* associated gastritis: immunohistochemical localisation and in vitro effects on cytokine secretion. **Journal of Clinical Pathology**, vol.54, n.4, p.285-92, 2001.

BOHR,U.R.M. *et al.* Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection – other *Helicobacters*. **Helicobacter**, Oxford, vol.12, suppl.1, p.45-53, 2007.

BORCH,K. *et al.* The ratio of pepsinogen A to pepsinogen C: a sensitive test for atrophic gastritis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, vol.24, no7, pp. 870-876, 1989.

BOWLES,M.J., BENJAMIN,I.S. ABC of the upper gastrointestinal tract. Cancer of the stomach and pancreas. **British Medical Journal** vol.323, p.1413-6, 2001.

BRINTON, L.A. *et al.* Cancer risk following pernicious anemia. **British Journal Cancer**, vol.59, p.810-813, 1989.

BURMAN,P. *et al.* H⁺, K⁺ ATPase antibodies in autoimmune gastritis: observations on the development of pernicious anemia. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, vol.26, p.207-214, 1991.

CABRAL,M.M.D.A., *et al.* Apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis is related to cagA status. **Helicobacter**, vol.11, n.5, p.469–476, 2006.

CABRAL,M.M.D.A., *et al.* Gastric epithelial cell proliferation and cagA status in *Helicobacter pylori* gastritis at different gastric sites. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, vol.42, n.5, p.545-554, 2007.

CAO,Q., RAN,Z.H., XIAO, S.D. Screening of atrophic gastritis and gastric cancer by serum pepsinogen, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* immunoglobulin G antibodies. **Journal of Digestive Diseases**, Shangai, vol.8, p.15-22, 2007.

CAPELLA,C., *et al.* Autoimmune gastritis. In: GRAHAN,D.Y., GENTA,R.M., DIXON,M.F. **Gastritis**. Ed. Philadelphia: Lippincott, 1999. Cap.6, p.79-96.

CARMEL,R. Cobalamin and osteoblast-specific proteins. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, vol.319, n.2, p.70-75, 1998.

CARMEL, R. Reassessment of the relative prevalence of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anemia: influence of patient age and race. **Clinical and Experimental Immunology**, Los Angeles, vol.89, n.1, p.74-77, 1992.

CARMEL,R., AURANGZEB,I., OJAN,D. Association of food-cobalamin malabsorption with ethnic origin, age, *Helicobacter pylori* infection, and serum markers of gastritis. **American Journal of Gastroenterology**, vol.96, p.63-70, 2001.

CARNEIRO,R.A. Epidemiological aspects of osteoporosis in Brazil. **Bone**, Londres, vol.29, n.3, p.298, 2001.

CHAN,J.C.W. *et al.* Pernicious anemia in Chinese: a study of 181 patients in a Hong Kong Hospital. **Medicine**, Philadelphia, vol.85, n.3, p.129-138, 2006.

CHAO-CHUAM,W., *et al.* Clinical relevance of the *vacA*, *iceA*, *cagA*, and *flaA* genes of *Helicobacter pylori* strains isolated in Eastern Taiwan. **Journal of Clinical Microbiology**, vol.43, n.6, p.2913–2915, 2005.

CHECCLIS., *et al.* Serum ghrelin as a marker of atrophic body gastritis in patients with parietal cell antibodies. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Charlotte, vol.92, n.11, p.4346-51, 2007.

COHEN,H., WEINSTEIN,W.M., CARMEL,R. Heterogeneity of gastric histology and function in food cobalamin malabsorption: absence of atrophic gastritis and achlorhydria in some patients with severe malabsorption. **Gut**, Londres, vol.47, p.638-645, 2000.

COOPER,C.W., *et al.* Thyrocalcitonin - stimulation of secretion by penagastrin. **Science**, Washington, vol.172, p.1238-1240, 1971.

COOPER,C.W., *et al.* Hypocalcemic effect of pentagastrin and related gastrointestinal hormonal peptides in the rat. **Endocrinology**, vol.91, p.1455-1461, 1972.

CORREA,P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process – first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. **Cancer Research**, vol. 52, p.6735-6740, 1992.

CORREA,P., PIAZUELO,M.B., CAMARGO,M.C. The future of gastric cancer prevention. **Gastric Cancer** vol.7, p.9-16, 2004.

COOREA,P., HOUGHTON,J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, vol.133, p.659-672, 2007.

COSTA-PAIVA,L. *et al.* Prevalência de osteoporose em mulheres na pós-menopausa e associação com fatores de risco clínicos e reprodutivos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, vol.25, n.7, p.507-512 , 2003.

CRAWFORD,J.M. The gastrointestinal tract. In. COTRAN,R.S., KUMAR,V., COLLINS,T. : **Pathologic Basis of Diseases**. 6ed. Philadelphia: Saunders, 1999. Cap.18, p.787-802.

CUMMINGS,L., MELTON,L. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. **The Lancet**, vol.359, n.9319, p.1761-1767, 2002.

DATE,Y., *et al.* Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. **Endocrinology** vol.141, p.4255-4261, 2000.

DAVIDSON,A., DIAMOND,B. Autoimmune diseases. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, vol.345, p.340-345, 2001.

DELLE FAVE,G. *et al.* Progression of gastric enterochromaffin-like cells growth in Zollinger-Ellison syndrome and atrophic body gastritis patients. **Seminars and Liver Diseases**, Rome, vol.34, n.4, p.270-278, 2002.

D'ELIOS,M.M., *et al.* Gastric autoimmunity: the role of *Helicobacter pylori* and molecular mimicry. **Trends in Molecular Medicine**, vol.10, n.7, p.316-323, 2004.

D'ELIOS,M.M., ANDERSEN,L.P. *Helicobacter pylori* inflammation, immunity, and vaccines. **Helicobacter**, Oxford, vol.12, suppl.1, p.15-19, 2007.

de VRIES,A.C. *et al.* The detection, surveillance and treatment of premalignant gastric lesions related to *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, Oxford, vol.12, p.1-15, 2007.

DHONUKSHE-RUTTEN *et al.* Vitamin B12 status is associated with bone mineral content and bone mineral density in frail elderly women but not in men. **Journal of Nutrition**, vol.133, p.801-807, 2003.

DHONUKSHE-RUTTEN *et al.* Homocysteine and vitamin B12 status relate to bone turnover markers, broadband ultrasound attenuation, and fractures in healthy elderly people. **Journal of Bone and Mineral Research**, vol.20, p.921-929, 2005.

DINIS-RIBEIRO,M., *et al.* Meta-analysis on the validity of pepsinogen test for gastric carcinoma, dysplasia or chronic atrophic gastritis screening. **Journal of Medical Screening**, vol.11, p.141-147, 2004.

DIXON,M.F., *et al.* Classification and grading of gastritis. The Updated Sydney System. International workshop on the histopathology of gastritis, Houston 1994. **American Journal of Surgical Pathology** vol.20, p.61-80, 1996.

EASTELL,R., *et al.* Pernicious anaemia as a risk factor for osteoporosis. **Clinical Sciences**, Londres, vol.82, p.681-5, 1992.

EDDY, RL. Metabolic bone disease after gastrectomy. **American Journal of Medicine** vol. 50, n.4, p. 442-9, 1971.

EGAN,B.J., *et al.* *Helicobacter pylori* gastritis, the unifying concept for gastric diseases. **Helicobacter**, vol. 21, suppl.12, p.39-44, 2007.

EIDT,S. *et al.* The histopathological spectrum of type A gastritis. **Pathology, Research and Practice**, Cologne, vol.192, n.2, p.101-106, 1996.

EL-OMAR,E.M., *et al.* Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. **Nature**, vol.404, p.398-402, 2000.

EL-OMAR,E.M., *et al.* Increased risk of non-cardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. **Gastroenterology**, vol.124, p.1193-1201, 2003.

EL-ZIMAITY,H.M. *et al.* Interobserver variation in the histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. **Human Pathology**, vol.27, n.1, p.35-41, 1996.

EL-ZIMAITY,H.M. *et al.* Patterns of gastric atrophy in intestinal type gastric carcinoma. **Cancer**, vol.94, p.1428-1436, 2002.

ESPALLARGUES,M., *et al.* Identifying bone-mass-related risk factors for fracture to guide bone densitometry measurements: a systematic review of the literature. **Osteoporosis International**, Londres, vol.12, n.10, p.811-22, 2001.

FARINATI, F. *et al.* Changes in parietal mass in the gastric mucosa of normal subjects with age: a morphometric study. **Gerontology**, Padova, vol.39, n.3, p.146-151, falta o ano

FELDMAN, M. *et al.* Effects of aging and gastritis on gastric acid and pepsin secretion in humans: a prospective study. **Gastroenterology**, Dallas, vol.110, n.4, p.1043-1052, 1996.

FERREIRA,R. *et al.* Parietal cell/endocrine cell ratio in the oxyntic mucosa of some species of mamals. **Acta Microscópica**, vol.8, p.169, 1999.

FIGURA,N., *et al.* Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in male patients with osteoporosis and controls. **Digestive Diseases and Sciences**, Pittsburgh, vol.52, p.847-852, 2005.

FOX,J.G., *et al.* Inflammation, atrophy, and gastric cancer. **The Journal of Clinical Investigation**, vol.117, n.1, p.60-69, 2007.

FRANCO,A.T., *et al.* Regulation of gastric carcinogenesis by *Helicobacter pylori* virulence factors. **Cancer Research**, vol.68, n.2, p.379-87, 2008.

GLEESON,P.A., TOH,B.H. Molecular targets in pernicious anemia. **Immunology Today**, Prahan, vol. 12, n. 7, p.233-238, 1991.

GJESTAL,C.G. *et al.* Plasma Total Homocysteine Level and Bone Mineral Density: The Hordaland Homocysteine Study. **Archives of Internal Medicine**, vol.166, p.88-94, 2006.

GUARNER,J. *et al.* Interobserver variability in application of the revised Sydney classification for gastritis. **Human Pathology**, vol.30, n.12, p.1431-1434, 1999.

GOERSS,J.B., *et al.* Risk of fractures in patients with pernicious anemia. **Journal of Bone and Mineral Research**, vol.7, n.5, p.573-9, 1992.

HAKANSON,R. New aspects of the formation and function of histamin, 5-hydroxytryptamine, and dopamine in gastric mucosa. **Acta Physiologica Scandinavia**, vol.340, p.7-134, 1970.

HAKANSON,R., *et al.* ECL cells: biology and pathobiology. **Digestion**, vol.55, p.38-45, 1994.

HEANEY,R.P. Pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. In: Favus MJ, editor. **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. Third edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; p.252-254, 1996.

HEISKANEN,J.T., *et al.* Bone mineral metabolism after total gastrectomy. **Bone** vol.28, p.123-7, 2001.

HOLD,G.L., *et al.* A functional polymorphism of Toll-like receptor 4 gene increases risk of gastric carcinoma and its precursors. **Gastroenterology** vol.132, p.905-912, 2007.

HSING,A.W. *et al.* Pernicious anemia and subsequent cancer. **Cancer**, vol. 71, p. 745-750, 1993.

HSU H, *et al.* Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. **Proceedings of National Academy of Science USA**, vol.96, n.7, p.3540-5, 1999.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Schistosomes, liver flukes, and *Helicobacter pylori*. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. **IARC Monogr Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans** v.61, p.177-241, 1994.

JAFFE,B.M., PESKIN,G.W., KAPLAN,E.L. Relationship of serum gastrin to parathyroid hormone secretion in sheep. **Metabolism**, vol.23, n.4, p.307-10, 1974.

KAKEHASI,A.M., *et al.* The presence of *Helicobacter pylori* in postmenopausal women is not a factor to the decrease of bone mineral density. **Arquivos de Gastroenterologia**, Riberão Preto, vol. 44, n. 3, p. 266-270, 2007.

KANIS,J., *et al.* The diagnosis of osteoporosis. **Journal of Bone and Mineral Research**, vol.9, p.1137-1141, 1994.

KANIS,J., *et al.* Risk factors for hip fracture in men from southern Europe: the MEDOS study. Mediterranean Osteoporosis Study. **Osteoporosis International**, vol.9, n.1, p.45-54, 1999.

KAPLAN,E.L., *et al.* Evidence for a role of the stomach in serum calcium regulation. **Journal of Surgical Research** vol.22, p.237-241, 1976.

KATO, S. *et al.* Association between gastric atrophy and *Helicobacter pylori* infection in Japanese children: a retrospective multicenter study. **Digestive Diseases and Sciences**, vol.51, n.1, p.99-104, 2006.

KELLEY,J.R., DUGGAN,J.M. Gastric cancer epidemiology and risk factors. **Journal of Clinical Epidemiology** vol.56, p.1-9, 2003.

KIM,G.S. *et al.* Effects of vitamin B₁₂ on cell proliferation and cellular alkaline phosphatase activity in human bone marrow stromal osteoprogenitor cells and UMR106 osteoblastic cells. **Metabolism** vol.45, n.12, p.1443-1446, 1996.

KOGIMA,M., *et al.* Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature** vol.402, p.656-6, 1999.

KORSTANJE,A. *et al.* Role of *Helicobacter pylori* and autoimmunity in serological atrophic corpus gastritis in a Dutch primary care community. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, vol.18, p.911-916, 2006.

KUIPERS,E.J., *et al.* *Helicobacter pylori*, pepsinogen and gastrin: relationship with age and development of atrophic gastritis. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, vol.8, n.2, p.153-156, 1996.

LARSSON,B. *et al.* Extracts of ECL-cell granules/vesicles and of isolated ECL cells from rat oxyntic mucosa evoke a Ca²⁺ second messenger response in osteoblastic cells. **Regulatory Peptides**, vol.97, p.153-161, 2001.

LAUREN,P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type. **Acta Pathologica and Microbiological Scandinavian**, vol.64, p.31-49, 1965.

LIEDMAN,B., *et al.* Osteoporosis after total gastrectomy. Results of a prospective, clinical study. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, vol.32, n.11, p.1090-5, 1997.

LIMLOMWONGSE,L., KRISHNAMRA,N. The mechanism of action and target organ of gastrin-induced hypocalcemia. **Proceedings of Society Experimental Biology and Medicine** vol.168, n1, p.72-6, 1981.

LORA,F.L., *et al.* Avaliação da densidade mineral óssea em pacientes com doença inflamatória intestinal. **Arquivos de Gastroenterologia**, Ribeirão Preto, vol.42, n.4, p.201-205, 2005.

LU,B. *et al.* Effects of *Helicobacter pylori* eradication on atrophic gastritis and intestinal metaplasia: A 3-year follow-up study. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, vol.11, n.4, p.6518-6520, 2005.

McLEAN,R.R., *et al.* Plasma homocysteine concentrations predict the risk of hip fracture in elderly men and women: the Framingham Study. **The New England Journal of Medicine**, vol. 350, n.20, p.2042-2049, 2004.

MAEDA,S., MENTIS,A.F. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, Oxford, vol. 12, suppl.1, p.10-14, 2007

MAIER,G.W. *et al.* Calcium regulation and bone mass loss after total gastrectomy in pigs. **Annals of Surgery**, Baltimore, vol.225, n.2, p.181-92, 1997.

MALFERTHEINER,P., *et al.* Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht III Consensus Report. **Gut**, Londres, vol.56, n.6, p.772-81, 2007

MARCINOWSKA-SUCHOWIERSKA,E.B. *et al.* Calcium/phosphate/vitamin D homeostasis and bone mass in patients after gastrectomy, vagotomy, and cholecystectomy. **World Journal of Surgery**, vol.19, n.4, p.597-601, 1995.

MARKLE,H.V. Cobalamin. **Critical Reviews in Clinical Laboratorial Sciences**, Scarborought, vol.33, n.4, p.247-356, 1996.

MARSHALL,B.J., WARREN,J.R. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. **Lancet**, vol.8336, p.1273-1275, 1983.

MELTON,L.J.I. Epidemiology of vertebral fracture in women. **American Journal of Epidemiology**, vol.129, p.1000-1011, 1989.

MELTON,L.J.I. Epidemiology of hip fractures: implications of the exponential increase with age. **Bone**, vol.18, suppl.3, p.121S-125S, 1996.

MELTON,L.J.I. How many women have osteoporosis now? **Journal of Bone and Mineral Research**, vol.10, p.175-7, 1995.

MELTON,L.J.I, *et al.* Fracture risk after surgery for peptic ulcer disease: a population-based cohort study. **Bone** vol.5, n.1, p.61-67, 1999.

MELLSTROM,D., *et al.* Osteoporosis, metabolic aberrations, and increased risk for vertebral fractures after partial gastrectomy. **Calcified Tissue International**, vol.53, n.6, p.370-7, 1993.

MOSS,S.F., MALFERTHEINER,P. Helicobacter and gastric malignancies. **Helicobacter**, Oxford, vol. 12, suppl.1, p.23-30, 2007.

MUKOUBAYASHI,C. *et al.* Serum pepsinogen and gastric cancer screening. **Internal Medicine**, vol.46, n.6, p.261-266, 2006.

MURRAY,C.D., *et al.* Ghrelin for the gastroenterologist: history and potencial. **Gastroenterology**, vol.125, p.1492-502, 2003.

NAKAJIMA,T. *et al.* Higher methylation levels in gastric ucosae significantly correlate with higher risk of gastric cancers. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, vol.15, p.2317-2321, 2006.

NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION. America's bone health: the state of osteoporosis and low bone mineral mass in our nation. Washington (DC): National Osteoporosis Foundation, 2002.

NAYLOR,G.M. *et al.* Why does Japan have a high incidence of gastric cancer? Comparison of gastritis between UK and Japanese patients. **Gut**, Londres, vol.55, p.1545-1552, 2004.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. **Journal of American Medical Association**, vol.285, p.785-795, 2001.

OFFERHAUS,G.J., *et al.* Observer agreement on the grading of gastric atrophy. **Histopathology**, vol.34, p.320-5, 1999.

OHATA,H., *et al.* Progression of chronic atrophic gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection increases risk of gastric cancer. **International Journal of Cancer**, vol.109, n.1, p.138 – 143, 2004.

OHATA,H., *et al.* Gastric cancer screening of a high-risk population in Japan using serum pepsinogen and barium digital radiography. **Cancer Science**, vol.96, n.10, p.713–720, 2005.

OHKUSA,T., *et al.* Improvement in serum pepsinogens and gastrin in long-term monitoring after eradication of *Helicobacter pylori*: comparison with *H. pylori*-negative patients. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, vol.20, Suppl.1, p.25-32, 2004.

OKSANEN,A. *et al.* Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in outpatients referred for gastroscopy. **Gut** vol.46, p.460-463, 2000.

OSTEOPOROSIS Prevention, Diagnosis, and Therapy. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. **The Journal of American Medical Association**, vol.285, p.785-795, 2001.

OZDEM,S., *et al.* Biochemical markers of bone metabolism in children with *Helicobacter pylori* infection. **Digestive Diseases and Sciences**, Pittsburgh vol.52, p.967-972, 2007.

PARKIN,D.M., BRAY,F.I., DEVESSA,S.S. Cancer burden in the year 2000. The global picture. **European Journal of Cancer** vol.37, suppl 8, p.S4-66, 2001.

PARKIN,D.M. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. **International Journal of Cancer** vol.118, p.3030-44, 2006.

PERSSON,P. *et al.* Cholecystokinins but not gastrin-17 release calcitonin from thyroid C-cells in the rat. **Regulatory Peptides**, vol.21, p.45-56, 1988.

PERSSON, P. *et al.* Gastrin releases a blood calcium-lowering peptide from the acid-producing part of the rat stomach. **Proceedings of National Academy of Science U S A** vol. 86, n.8, p.2834-8, 1989.

PEARSE,A.G.A. Common cytochemical properties of the cells producing polypeptide hormones, with particular reference to calcitonin and thyroid C cells. **The Veterinary Record**, vol.79, p.587-590, 1966.

PINHEIRO,M., DANOWSKI,J. SZJENFELD,V.L. São Paulo Osteoporosis Study (SAPOS). **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, vol.46, supl.2, 2006.

POTET, F *et al.* Chronic gastritis: prevalence in the French population. **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, Paris, vol. 17, p. 103-108, 1993.

PRESOTTO, F., *et al.* *Helicobacter pylori* infection and gastric autoimmune diseases: is there a link? **Helicobacter**, Oxford, vol. 8, n. 6, p. 578-584, 2003.

QUEIROZ,D.M. *et al.* cagA-positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. **International Journal of Cancer** vol.78, p.135-139, 1998.

RAD,R., *et al.* Toll-like receptor-dependent activation of antigen-presenting cells affects adaptive immunity to *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, vol.133, p.150-163, 2007.

RADOMINSKI,S.C., *et al.* Osteoporose pós-menopausa: Diretrizes da Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina (on line) 2002. Disponível em www.projetodiretrizes.org.br.

RECKER,R.R. Calcium absorption and achlorhydria. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, vol.313, p.70-3, 1985.

REJMAN,F. Postgastrectomy syndrome. A clinical study based upon 100 patients. **Annales Chirurgiae et Gynaecologiae Fenniae** Suppl vol.170, p.1-63, 1970.

REJNMARK,L., *et al.* Dietary intake of folate, but not vitamin B2 or B12, is associated with increased bone mineral density 5 years after the menopause: results from a 10-year-follow-up study in early postmenopausal women. **Calcified Tissue International**, vol.82, p.1-11, 2008.

RIGGS,B.L., KHOSLA,S., MELTON,L.J. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. **Journal of Bone and Mineral Research**, Durham, vol.13, p.763-773, 1998.

RUGGE,M., *et al.* Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading. **Alimentary Pharmacology Therapy**, vol.16, p.1249-1259, 2002.

RUGGE, M., *et al.* Gastritis staging in clinical practice: the OLGA staging system. **Gut**, vol.56, p.631-636, 2007.

RUIZ, B., *et al.* Morphometric assessment of gastric antral atrophy: comparison with visual evaluation. **Histopathology**, vol.39, p.235-242, 2001.

SAMLOFF, I.M. *et al.* Pepsinogens I and II: purification from gastric mucosa and radioimmunoassay in serum. **Gastroenterology**, Los Angeles, v.82, p.26-33, 1982a.

SARAIVA,G.L., LAZARETTI-CASTRO,M. Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, vol.46, no.1, p.72-78, 2002.

SHIOTANI,A., MIYANISHI,T., UEDO,N. *et al.* *Helicobacter pylori* infection is associated with reduced circulating ghrelin independent of body mass index. **Helicobacter**, Oxford, vol.10, p.373-378, 2005.

SHIOTANI,A., *et al.* Evidence that loss of sonic Hedgehog is an indicator of *Helicobacter pylori* atrophic gastritis progressing to gastric cancer. **American Journal of Gastroenterology**, vol.100, p.581-587, 2005.

SCHULAK,J.A., KAPLAN,E.L. The importance of the stomach in gastrin-induced hypocalcemia in the rat. **Endocrinology**, vol.96, n.5, p.217-20, 1975.

SCOTT,E.M., GAYWOOD,I., SCOTT,B.B. Guidelines for osteoporosis in coeliac disease and inflammatory bowel disease. **Gut**, vol.46, Suppl I, p.i1-i8, 2000.

SILVEIRA,V.A.L., *et al.* Incidência de fratura de quadril em área urbana do Nordeste brasileiro. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, vol.21, n.3, p.907-912, 2005.

SIPPONEN,P. *et al.* Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross-sectional data. **International Journal of Cancer**, vol.35, p.173-177, 1985.

SIRIS,E.S. *et al.* Predictors of six-year incident fractures in post-menopausal women: results from National Osteoporosis Risk Assessment (NORA). **Journal of Bone and Mineral Research**, vol.19, n.9, p.1215-1219, 2004.

SITAS,F., *et al.* Serum anti-*Helicobacter pylori* IgG antibodies and pepsinogens A and C as serological markers of chronic atrophic gastritis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, vol.2, p.119-123, 1993.

SIURALA,M., *et al.* Prevalence of gastritis in a rural population. Biopptic study of subjects selected at random. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, vol. 3, p.211-233, 1968.

SJÖBLOM,S.M., SIPPONEN,P., JÄRVINEN,H. Gastroscopic follow up of pernicious anaemia patients. **Gut**, vol.34, n.1, p.28-32, 1993.

SOUTHERLAND,J.C., VALENTINE,J.F. Osteopenia and osteoporosis in gastrointestinal diseases: diagnosis and treatment. **Current Gastroenterology Reports**, Philadelphia, vol.3, n.5, p.399-407, 2001.

SYLVESTER,F.A. Bone abnormalities in gastrointestinal and hepatic disease. **Current Opininn in Pediatrics**, vol.1, n.5, p.402-7, 1999.

TAKE, S., *et al.* Baseline gastric mucosal atrophy is a risk factor associated with the development of gastric cancer after *Helicobacter pylori* eradication therapy in patients with peptic ulcer diseases. **Journal of Gastroenterology** vol. 42, p. 21-27, 2007.

TORBENSON,M. *et al.* Autoimmune gastritis: distinct histological and immunohistochemical findings before complete loss of oxyntic glands. **Modern Pathology**, vol.15, n.2, p.102-9, 2002.

TOH,B.H., VAN DRIEL,I.R., GLESSON,P.A. Pernicious anemia. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, vol. 337, p.1441-1448, 1997.

TOVEY,F.I., GODFREY,J.E., LEWIN,M.R. A gastrectomy population: 25-30 years on. **Postgraduate Medical Journal**, vol.66, n.776, p.450-6, 1990.

TUCKER,K.L., *et al.* Low plasma vitmain B₁₂ is associated with lower BMD: The Framingham Osteoporis Study. **Journal of Bone and Mineral Research**, vol.20, n.1, p.152-158, 2005.

TUOMINEN,J.T. *et al.* Bone mineral density in patients with type 1 and 2 diabetes. **Diabetes Care**, vol.22, p.1196-1200, 1999.

UEMURA,N. *et al.* Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, vol.345, p.784-789, 2001.

UEYAMA,T., *et al.* Gastric parietal cells: potent endocrine role in secreting estrogen as a possible regulator of gastro-hepatic axis. **Endocrinology**, vol.143, n.8, p.3162-3170, 2002.

UEYAMA,T., *et al.* Estrogen-producing steroidogenic pathways in parietal cells of the rat gastric mucosa. **Life Sciences**, vol.74, n.18, p.2327-2337, 2004.

UNIVERSITY OF WASHINGTON. Anti-parietal cell antibodies.

http://depts.washington.edu/labweb/Divisions/Imm/ImmTesting/ANTI_PARIETAL.html

Acessado em 21/03/2007.

VALLE, J. *et al.* Long-term course and consequences of *Helicobacter pylori* gastritis. Results of a 32-year follow-up study. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, vol.31, n.6, p.546-550, 1996.

VAN DAELE,P.L., *et al.* Bone density in non-insulin dependent diabetes mellitus: the Rotterdam Study. **Annals of Internal Medicine**, vol.122, p.409–414, 1995.

VAN GRIEKEN,N.C.T., *et al.* Rapid quantitative assessment of gastric corpus atrophy in tissue sections. **Journal of Clinical Pathology**, Londres, vol.54, p.63-69, 2001.

VAN MEURS,J.B.J., *et al.* Homocysteine leves and the risk of osteoporotic fracture. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, vol.350, p.2033-2041, 2004.

VOUTILAINEN,M., *et al.* Immunohistochemical study of neuroendocrine cells at the gastric cardia mucosa. **Journal of Clinical Pathology**, Londres, vol.55, p.767-769, 2002.

ZANETTE,E., *et al.* Avaliação do diagnostico densitométrico de osteoporose /osteopenia conforme o sitio ósseo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, vol.47, n.1, p.30-36, 2003.

ZATERKA, S. Factors related to *Helicobacter pylori* prevalence in a adult population in Brazil. **Helicobacter**, Oxford, vol. 12, p. 82-88, 2007.

ZELLIN,G., HAKANSON,R., LINDE,A. Gastrectomy has no effect on bone regeneration in rats despite a decrease in bone mass. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, vol.37, n.10, p.1149-55, 2002.

ZITTOUN, J. Biermer`s diseade. **La Revue du Praticien**, Créteil, vol.51, n.14, p.1542-1546, 2001.

ZAVROS,Y., *et al.* Chronic gastritis in hypochlorydric gastrin-deficient mouse progresses to adenocarcinoma. **Oncogene** vol.24, p.2354-2366, 2005.

ZAVROS,Y. *et al.* Reduced pepsin A processing of sonic hedgehog in parietal cells precedes gastric atrophy and transformation. **Journal of Biology and Chemistry**, vol.282, p.433265-74, 2007.

WASNICH,R. Bone mass measurement: prediction of risk. **American Journal of Medicine**, vol.95, p.65-105, 1993.

WATABE,H., MITSUSHIMA,T., YAMAJI,Y. *et al.* Predicting the development of gastric câncer from combining *Helicobacter pylori* antibodies and serum pepsinogen status: a prospective endoscopic cohort study. **Gut**, Londres, vol.54, p.764-768, 2005.

WILSON,K.T., CRABTREE,J.E. Immunology of *Helicobacter pylori*: insights into the failure of the immune response and perspectives an vaccine studies. **Gastroenterology**, Nova Iorque, vol.133, p.288-308, 2007.

WONG, B.C. *et al.* *H pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. **Journal of American Medical Association**, Chicago, vol.291, p.187-194, 2004.

YAMAGUCHI,H. *et al.* Identification of spasmodic polypeptide expressing metaplasia (SPEM) im remnant gastric cancer and surveillance postgastrectomy biopsies. **Digestive Diseases and Sciences**, vol.47, p.573-578, 2002.

YAMAOKA,Y., *et al.* Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. **Journal of Clinical Microbiology**, , vol.37, n.7, p.2274-2279, 1999.

YAMAOKA,Y. *et al.* *Helicobacter pylori* outer membrane proteins and gastroduodenal disease. **Gut**, Londres vol.55, p.775-781, 2006.

YOSHIHARA,M. *et al.* Correlation of ratio of serum pepsinogen I and II with prevalence of gastric cancer and adenoma in Japanese subjects. **The American Journal of Gastroenterology**, vol.93, n.7, p.1090–1096, 1998.

YOU,W.C., BRONW,L.M., ZHANG,L. *et al.* Randomized double-blind factorial trial of three treatments to reduce the prevalence of precancerous gastric lesions. **Journal of the National Cancer Institute**, Oxford, vol.98, p.974-83, 2006.

12. ANEXOS

12.1 Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa ETIC 173/00

12.2 Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa ETIC 479/04

12.3 Declaração de Aprovação da Defesa da Tese

12.4 Ata da Reunião da Defesa da Tese