

CHRISTIANE TEIXEIRA CARTELLE

**PROLIFERAÇÃO EPITELIAL GÁSTRICA EM CRIANÇAS INFECTADAS POR  
*Helicobacter pylori***

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Área de concentração: Patologia Geral

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ana Margarida Miguel  
Ferreira Nogueira

Belo Horizonte  
2006

## AGRADECIMENTOS

Uma dissertação de mestrado é mais do que um requisito escolar para obtenção de título acadêmico. Ela encerra outros elementos quase sempre escondidos. Por isso, tornou-se praxe que o autor da dissertação reconheça os estímulos e ajudas recebidas. Os agradecimentos a seguir externam essas colaborações, muitas e variadas.

Na minha família (pai, mãe, irmão e esposo) encontrei incentivo e apoio contínuos. Colegas de estudo e de trabalho do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Universidade Federal de Minas Gerais sugeriram caminhos, transmitiram opiniões e ensinaram técnicas que ultrapassam este trabalho, facilitando a aquisição de hábitos e conhecimentos que acompanharão, no futuro, a atividade intelectual. A colaboração da Professora Dulciene Queiroz e dos funcionários do Laboratório de Bacteriologia da UFMG foi de grande importância no desenvolvimento deste trabalho.

A bolsa concedida pela CAPES proporcionou meios que permitiram a exclusiva dedicação ao trabalho de estudo e pesquisa.

O principal agradecimento é à professora e orientadora Doutora Ana Margarida Miguel F. Nogueira, exemplo de dedicação, seriedade e sabedoria. Além de profissional que assinala caminhos no afazer científico pretendido por um orientando, a professora e mestre enriquece como pessoa a quem com ela convive. A ela meu permanente agradecimento.

Finalmente, o período de trabalho na Fundação Ezequiel Dias, sob a orientação do professor Eládio Flores Sánchez, foi muito importante na aquisição de conhecimentos, técnicas de laboratório e de hábitos de trabalho. Meu agradecimento estende-se, também, aos colegas do Setor de Pesquisa e Desenvolvimento dessa instituição, assim como ao apoio e acolhida que tive, durante o período do Mestrado, pela Doutora Luciana no Laboratório de Cultivo Celular.

Resumo todos os agradecimentos no último (que é o primeiro) ao Senhor da Vida. Que a sua mão sempre me indique caminhos e proteja os que me ajudaram.

## SUMÁRIO

Agradecimentos	iii
Lista de Gráficos	vi
Lista de Figuras	viii
Lista de Quadros e Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas	x
Resumo	xi
<b>1. Introdução</b>	<b>01</b>
<b>2. Objetivos</b>	<b>03</b>
Objetivo geral	03
Objetivos específicos	03
<b>3. Revisão da Literatura</b>	<b>04</b>
3.1. <i>Helicobacter pylori</i> – Aspectos gerais	04
3.2. Fatores de virulência do <i>H. pylori</i>	08
3.2.1. Gene <i>cagA</i> (cytotoxin-associated gene)	09
3.2.2. Gene <i>vacA</i> (vacuolating cytotoxin)	11
3.2.3. Gene <i>babA</i> (blood-group antigen-binding adhesin)	12
3.2.4. Gene <i>iceA</i> (blood-group antigen-binding adhesin)	13
3.3. <i>H. pylori</i> e fisiologia gástrica	13
3.3.1. <i>H. pylori</i> e <i>turnover</i> celular	15
3.4. Doenças associadas à infecção por <i>H. pylori</i>	18
3.4.1. Gastrite	19
3.4.2. <i>H. pylori</i> e úlcera duodenal	21

3.5. <i>H. pylori</i> e carcinogênese gástrica -----	23
<b>4. Material e Métodos -----</b>	<b>26</b>
4.1. Características dos pacientes -----	26
4.2. Coleta e processamento do material -----	27
4.2.1 Análise microbiológica -----	27
4.2.2 Análise histológica -----	28
4.3. Estudo imuno-histoquímico -----	28
4.4. Avaliação da proliferação celular -----	30
4.5. Análise estatística -----	32
4.6. Aspectos éticos -----	32
<b>5. Resultados -----</b>	<b>33</b>
5.1. Características histopatológicas -----	33
5.2. Avaliação do índice de proliferação celular por caso -----	35
5.3. Avaliação do índice de proliferação por colo glandular -----	38
5.4. Correlação da proliferação celular com os parâmetros de inflamação -----	42
<b>6. Discussão -----</b>	<b>46</b>
<b>7. Conclusão -----</b>	<b>53</b>
<b>8. Referências Bibliográficas -----</b>	<b>54</b>

Abstract

Anexo: Transcrição da base de dados

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1 .</b> Índice de proliferação celular por caso em pacientes infectados e não infectados por <i>H. pylori</i> , em relação ao status <i>cagA</i> , gastrite e úlcera duodenal (UD) -----	38
<b>Gráfico 2.</b> Comparação do índice de proliferação celular por colo glandular em pacientes infectados e não infectados por <i>H. pylori</i> -----	39
<b>Gráfico 3.</b> Comparação do índice de proliferação celular por colo glandular em relação ao status <i>cagA</i> do <i>H. pylori</i> -----	39
<b>Gráfico 4.</b> Comparação do índice de proliferação celular por colo glandular em pacientes com gastrite infectados por amostras de <i>H. pylori cagA</i> positivas e negativas -----	40
<b>Gráfico 5.</b> Comparação dos índices de proliferação celular por colo glandular entre os pacientes <i>H. pylori</i> positivos com úlcera duodenal (UD) e gastrite (GA) e os pacientes não infectados (CT) -----	41
<b>Gráfico 6.</b> Comparação dos índices de proliferação celular por colo glandular entre os pacientes infectados por amostras de <i>H. pylori cagA</i> positivas em relação ao tipo de doença associada à infecção, gastrite (GA) e úlcera duodenal -----	41
<b>Gráficos 7 e 8 –</b> Representação da correlação entre o índice de proliferação celular por colo glandular com intensidade da inflamação e atividade entre pacientes <i>H. pylori</i> positivos -----	43
<b>Gráficos 9 e 10 –</b> Representação da correlação entre o índice de proliferação celular por colo glandular e intensidade da inflamação e atividade entre os pacientes infectados por amostras <i>cagA</i> positivas. -----	44

**Gráficos 11 e 12** – Representação da correlação entre o índice de proliferação celular por colo glandular com intensidade da inflamação e atividade entre os pacientes que apresentavam úlcera duodenal ----- 45

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1:** Fotomicrografias da mucosa gástrica corada por imuno-histoquímica para Ki-67 mostrando em **A** duas fovéolas com compartimento proliferativo (colo glandular) expandido e em **B** e **C** cortes transversais das fovéolas, contendo núcleos Ki-67 positivos----- 31
- FIGURA 2:** Fotomicrografias da mucosa antral com gastrite associada a *H. pylori* em casos de úlcera duodenal (A) e de gastrite não ulcerosa (B) (HE, aumento original 100x). ----- 33
- FIGURA 3:** Microfotografias evidenciando a proliferação celular identificada por núcleos Ki67+ na mucosa gástrica antral de criança *H. pylori* - (A) e de criança com gastrite por *H. pylori cagA+* (B)(ihq; aumento original: A 100x; B 200x)-- 35
- FIGURA 4:** Fotomicrografias evidenciando maior proliferação celular em mucosa gástrica em paciente com úlcera duodenal (A) em comparação com paciente com gastrite (B) (ihq, aumento original A: 200x e B: 400x)----- 36

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Características histológicas de mucosa gástrica de pacientes infectados por *H. pylori*, com gastrite e úlcera péptica duodenal (UD), infectados por amostras *cagA* (+) positivas e negativas (-) ----- 34
- Tabela 2.** Total de núcleos Ki-67 positivos (+) e negativos (-) e índice de proliferação celular no antro, por caso, em pacientes infectados e não infectados por *H. pylori*, *cagA* positivos (+) e negativos (-) e com gastrite e úlcera duodenal (UD) ----- 37
- Tabela 3 .** Correlação da proliferação celular por colo glandular com a intensidade da inflamação e atividade em cada grupo diagnóstico ----- 42

## LISTA DE ABREVIATURAS

EDA – Endoscopia Digestiva Alta

CaG – Câncer gástrico

GC – Gastrite Crônica

HE - Hematoxilina & Eosina

Ihq - Imunoistoquímica

IL - Interleucina

Ip – Índice de proliferação

MI - Metaplasia Intestinal

PAI – Ilha de Patogenicidade

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

UD – Úlcera Duodenal

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

## RESUMO

**Introdução:** A proliferação celular estimulada por *H. pylori* pode ter papel significativo na carcinogênese gástrica. Admite-se que a infecção na infância determine o risco de desenvolvimento do câncer gástrico. O microrganismo é capaz de modificar o *turnover* epitelial da mucosa gástrica induzindo hiperproliferação e apoptose. O aumento da proliferação pode ocorrer diretamente pela ação de fatores ligados à bactéria, indiretamente pela resposta inflamatória do hospedeiro ou pela interação entre ambos. Entre os fatores relacionados à bactéria destaca-se a infecção por amostras *cagA* positivas que induzem a taxas maiores de proliferação celular. Muitos estudos sobre proliferação celular têm sido realizados com foco em adultos. Os estudos em crianças são escassos e não abordam as diferenças em relação ao status *cagA* e doenças associadas à infecção. **Objetivos:** Analisar a proliferação epitelial gástrica em crianças infectadas por *H. pylori* em relação com o tipo de amostra, associação com úlcera duodenal (UD) e intensidade da gastrite. **Pacientes e Métodos:** Estudaram-se 54 pacientes (28 meninos e 26 meninas; idade  $10 \pm 3,7$  anos), nove *H. pylori* negativos (grupo controle) e 45 *H. pylori* positivos: 15 com UD (*cagA*+) e 30 com gastrite (19 *cagA* +). A presença da bactéria foi determinada por urease, cultura e PCR; o status *cagA* foi determinado por PCR. A proliferação epitelial foi estudada por imunohistoquímica (sABC) em núcleos do antro gástrico marcados com Ki67. A porcentagem de núcleos Ki67+ foi determinada por caso e por colo glandular em cada grupo diagnóstico e relacionada com a presença de *H. pylori* e tipo de amostra. **Resultados:** A porcentagem de núcleos Ki67+ foi mais alta nos pacientes infectados por *H. pylori* (40,9%) que naqueles não infectados (14,3%) ( $p \leq 10^{-3}$ ), nos pacientes com UD (41,9%) que naqueles com gastrite (40,2%) ( $p = 0,075$ ) e nos pacientes infectados por amostras *cagA* + (42,3%) em relação aos pacientes *cagA* - (32,2%) ( $p \leq 10^{-3}$ ). Entre os casos de gastrite, a proliferação celular foi significativamente maior no grupo *cagA* + (42,7% núcleos Ki67+) quando comparada com o grupo *cagA* - (32,2% núcleos Ki67+) ( $p \leq 10^{-3}$ ); não houve diferença entre pacientes *cagA* + com UD (41,9%) e gastrite (42,7%) ( $p = 0,45$ ). Entretanto, a porcentagem de núcleos Ki67+ / colo glandular foi significativamente maior nos casos de UD do que nos de gastrite ( $p = 0,001$ ). Observou-se correlação direta da inflamação e da atividade nos pacientes infectados por *H. pylori* ( $p = 0,005$  e  $p = 0,001$ ), no grupo infectado por amostras *cagA* + ( $p = 0,04$  e  $p = 0,003$ ) e no grupo de pacientes com UD ( $p = 0,01$  e  $0,04$ ). No grupo de pacientes com gastrite não se observou correlação entre os parâmetros da gastrite e a proliferação celular ( $p > 0,1$ ). **Conclusão:** Em crianças, a infecção por amostras de *H. pylori* *cagA* + se associa com o aumento da proliferação epitelial. A proliferação epitelial foi significativamente maior em pacientes com UD que naqueles com gastrite e correlacionou-se diretamente com a intensidade da gastrite nos pacientes com UD. Nossos resultados não corroboram o papel atribuído à proliferação celular na carcinogênese gástrica e sugerem que a resposta inflamatória pode modular o processo.