

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**ÚLCERA PÉPTICA GASTRODUODENAL E INFECÇÃO POR
HELICOBACTER PYLORI EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES:
FATORES DE RISCO DO HOSPEDEIRO E DA BACTÉRIA**

Belo Horizonte
2006

PAULO FERNANDO SOUTO BITTENCOURT

**ÚLCERA PÉPTICA GASTRODUODENAL E INFECÇÃO POR
HELICOBACTER PYLORI EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES:
FATORES DE RISCO DO HOSPEDEIRO E DA BACTÉRIA**

Tese apresentada no Programa de Pós-graduação de Ciências da Saúde e Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de Grau de Doutor em Pediatria.

Orientadora: Prof^a. Dulciene Maria Magalhães Queiroz
Co-Orientador: Prof. Gifone Aguiar Rocha

Belo Horizonte
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Ronaldo Tadeu Pena

Vice-Reitora: Prof^a. Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Professor Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Chefe do Departamento de Pediatria: Prof^a Cleonice de Carvalho Coelho Mota

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: João Lúcio dos Santos Júnior

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente: Prof. Joel Alves Lamounier

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente: Prof. Eduardo Araújo Oliveira

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente

Prof. Joel Alves Lamounier

Prof. Eduardo Araújo de Oliveira

Prof. Francisco José Penna

Prof^a Ivani Novato Silva

Prof. Marco Antônio Duarte

Prof. Marcos Borato Viana

Prof^a. Regina Lunardi Rocha

Prof. Roberto Assis Ferreira

Rute Maria Velásquez Santos (Rep. Discente – Titular)

Trabalho realizado no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e Hospitais Felício Rocho, Centro Geral de Pediatria da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais e Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais.

Às crianças que compõem esta casuística

AGRADECIMENTOS

Foram muitas pessoas que contribuíram para que esse trabalho se realizasse. Agradeço:

✓ aos Professores Dulciene Maria Magalhães Queiroz e Gifone Aguiar Rocha pelo grande incentivo, apoio e amizade, que proporcionaram uma orientação muito além desta pesquisa;

✓ aos membros do Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina da UFMG por toda colaboração neste estudo;

✓ aos meus professores que colaboraram no meu aprendizado da Pediatria e Endoscopia Digestiva, Francisco José Penna, Anfrisina Teles de Carvalho, Manuel Ernesto Peçanha Gonçalves, Edivaldo Fraga Moreira e Walton Albuquerque por toda amizade e confiança em mim depositadas, além de colaborarem de formas distintas para a realização deste estudo;

✓ às Equipes de Enfermagem e Anestesiologistas dos hospitais onde foram realizados os atendimentos das crianças que participaram deste estudo, que somente com este espírito de equipe podemos prestar uma boa atenção as crianças por nós atendidas;

✓ aos familiares das crianças dessa casuística, pela presteza em responder ao questionário, mesmo em seus momentos de dor;

✓ aos meus familiares; avós Joaquim, Dulce, Plínio e Lígia, meus pais Cícero e Dulce, meu sogro Irani e sogra Dicitola, minha mulher Cláudia e meus filhos Pedro e Marcela, por todo o apoio dentro da minha profissão, e em especial meu pai por todo o exemplo de vida profissional dedicada com ética, seriedade, competência e atenção universal às crianças independente de suas condições sociais e econômicas.

NOTA EXPLICATIVA

FORMATO DA TESE

De acordo com o regimento do Curso de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, esta tese está apresentada sob a forma de dois artigos: um de revisão da literatura sobre o tema “Úlcera péptica gastroduodenal e infecção pelo *Helicobacter pylori* em crianças e adolescentes”, e o segundo, o trabalho prospectivo “Polimorfismo dos genes que codificam interleucina 1 e infecção por amostras de *Helicobacter pylori* *cagA*-positivas no risco de úlcera duodenal em crianças”.

SUMÁRIO

Introdução - Histórico e Perspectivas.....	8
Trabalho 1 – Artigo de revisão, “Úlcera péptica gastroduodenal e infecção pelo <i>Helicobacter pylori</i> em crianças e adolescentes”.....	12
Trabalho 2 - Artigo Prospectivo, “Polimorfismo dos genes que codificam interleucina 1 e infecção por amostras de <i>Helicobacter pylori cagA</i> -positivas no risco de úlcera duodenal em crianças”.....	23.

HISTÓRICO E PERSPECTIVAS

A convite, do Professor Celso Afonso de Oliveira, participei de uma reunião dos Professores do Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia e do Grupo de Gastroenterologia Pediátrica do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais em 1999 cujo objetivo era a reorganização do grupo de estudo da relação entre *Helicobacter pylori* e doenças gastroduodenais em crianças. A minha integração ao grupo tinha como objetivo inicial ampliação do universo de pacientes atendido em outros hospitais de Belo Horizonte, com perfis semelhantes e distintos dos que eram habitualmente assistidos no Hospital das Clínicas. Os serviços de endoscopia digestiva integrados ao grupo foram o do Hospital Felício Rocho, um hospital geral, da rede privada de Belo Horizonte e o Centro Geral de Pediatria da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, destinado ao atendimento de crianças do Sistema Único de Saúde (SUS) de todo o estado. Depois de amplas discussões e elaboração de protocolos que foram aprovados pelos comitês de ética dos hospitais envolvidos, iniciamos a seleção e inclusão dos pacientes. Vários trabalhos foram concluídos e os resultados apresentados, em eventos científicos nacionais e internacionais e publicados sob a forma de artigos, na íntegra, em periódicos internacionais e muitos deles premiados. Ainda, vale ressaltar que, geraram dissertações de mestrado e teses de doutorado. Segue-se a lista dos trabalhos nos quais participei como co-autor.

Em 2001 o trabalho “Immune celular response of children to *Helicobacter pylori* infection” foi selecionado para apresentação oral na Sessão de Pediatria do “XIVth International Workshop on Gastroduodenal Pathology and *Helicobacter pylori*, European *Helicobacter pylori* Study Group” realizado em Straburgo, França. (Soares TF, Rocha GA, Rocha AMC, Cinque SMS, Cavalho AST, Bittencourt PFS, Nogueira AMMF, Oliveira RC, Filho OAM, Moreira EF. Gut 2001; 49:A75)

Em 2002 os trabalhos: “Associação entre o *babA2* e *cagA* de *Helicobacter pylori*, e úlcera duodenal em crianças” e “Imunofenotipagem de células moduladores do sangue periférico de crianças e adultos infectados pelo *Helicobacter pylori*” (selecionados como melhores trabalhos apresentados na área da Ciências da Saúde) foram apresentados na “XI Semana de Iniciação Científica da UFMG”.

Naquele mesmo ano o trabalho “Validação de um teste respiratório com uréia marcada com carbono 13 para o diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter pylori* em crianças da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais” foi apresentado e, também, selecionado como um dos melhores trabalhos apresentados na “III Semana de Pós-graduação da UFMG”.

Em 2003 o trabalho “*ILIRN* polymorphism and infection by *Helicobacter pylori cagA* strains are risk factors for developing duodenal ulcer in children” foi selecionado para apresentação oral no “XVIth International Workshop on Gastroduodenal Pathology and *Helicobacter pylori*” realizado em Estocolmo, Suécia (Queiroz DMM., Guerra JB, Oliveira AG., Rocha AM.C, Carvalho AST, Bittencourt PFS, Oliveira CA. *ILIRN* polymorphism and infection by *Helicobacter pylori cagA* strains are risk factors for developing duodenal ulcer in children. *Helicobacter* 2003;8:339-493 abstract 15-01). O artigo “Evaluation of ¹³C urea breath test and *Helicobacter pylori* stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Children from a Developing Country” foi publicado na íntegra no “Journal of Clinical Microbiology” (Cardinali LCA, Rocha G A, Rocha AMC, Moura SB, Soares TF, Esteves AMB, Nogueira AMMF Cabral MMDA, Carvalho AST, Bittencourt, PFS, Ferreira A, Queiroz DMM. Evaluation of ¹³C urea breath test and *Helicobacter pylori* stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Children from a Developing Country. *Journal of Clinical Microbiology* 2003;7,3334-3335).

Em 2004 o resumo “Association of *ILIRN* polymorphisms and infection by *Helicobacter pylori cagA* strains and duodenal ulcer in children” foi selecionado para apresentação oral no Digestive Disease Week, realizado em New Orleans, EUA e publicado sob a forma de resumo no suplemento de abril do *Gastroenterology* (Queiroz DMM, Bittencourt PFS, Guerra JB, Rocha AMC, Rocha GA, Carvalho AST, Soares TF, Oliveira CA. Association of *ILIRN* polymorphisms and infection by *Helicobacter pylori cagA* strains and duodenal ulcer in children 2004;126:A-98 abstract 739).

Também em 2004, o trabalho “*babA2* as a risk factor for duodenal ulcer in children” foi selecionado para apresentação oral na sessão de Pediatria do “XVIIth International Workshop on Gastroduodenal Pathology and *Helicobacter pylori*” realizado em Viena, Áustria e publicado como abstract no periódico “*Helicobacter*” (Silva JP, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AMC, Bittencourt PFS, Cabral MMDA, Nogueira AMMF,

Queiroz DMM. *babA2* as a risk factor for duodenal ulcer in children *Helicobacter* 2004;9:49 abstract 08/16).

Em 2005 o resumo “Polymorphisms of TLR-4/TLR-2 and risk of *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease in children” recebeu o prêmio de melhor trabalho na área “Epidemiology and Pediatrics” do “XVIIIth International Workshop on Gastrointestinal Pathology and *Helicobacter pylori*” realizado em Copenhague. O resumo foi publicado no periódico “*Helicobacter*” (Moura SB, Rocha GA, Rocha MC, J.B. Guerra Soares TF, Bittencourt PFS, Godoi LMG, Almeida LR, Queiroz DMM. Polymorphisms of TLR-4/TLR-2 and risk of *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease in children *Helicobacter* 2005;10:458 abstract 09/01)

Naquele ano o artigo “Phenotypic Study of Peripheral Blood Lymphocytes and Humoral Immune Response in *Helicobacter pylori* Infection According to Age” foi publicado na íntegra no “Scandinavian Journal of Immunology” (Soares TF, Rocha GA, Oliveira RC, Filho OAM, Carvalho AST, Bittencourt PFSB, Oliveira CA, Faria AMC, Queiroz DMM. Phenotypic Study of Peripheral Blood Lymphocytes and Humoral Immune Response in *Helicobacter pylori* Infection According to Age. *Scandinavian Journal of Immunology* 2005;62:63-70).

Em 2006 o estudo “Polymorphisms of TLR-4/TLR-2 and risk of *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease in children” foi selecionado para apresentação oral nos “Digestive Disease Week” realizado em Los Angeles, EUA e publicado sob a forma de resumo no suplemento de abril do “*Gastroenterology*” (Queiroz DMM, Rocha GA, Rocha AMC, Moura SB, Guerra JB, Bittencourt PFS, Soares TF, Godoi LM, Almeida LR. Polymorphisms of TLR-4/TLR-2 and risk of *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease in children. *Gastroenterology* 2006;130:A-70 abstract 469).

O trabalho “*IL2-330* T/G polymorphisms and risk of *Helicobacter pylori* infection and associated diseases in children” também foi selecionado para apresentação oral no “XIXth International Workshop on Gastrointestinal Pathology and *Helicobacter pylori*” (Queiroz DMM, Rocha GA, Gomes LI, Bittencourt P. Guerra JB, Soares TF, Rocha AMC, Carvalho AST, Moura SB. *IL2-330* T/G polymorphisms and risk of *Helicobacter pylori* infection and associated diseases in Children. *Helicobacter*, 11(suppl 1):372 abstract 09.01.

Para dar continuidade aos trabalhos, novo grupo de estudo foi formado por pesquisadores dos Departamentos de Propedêutica Complementar, Anatomia Patológica e Pediatria da Faculdade de Medicina, UFMG, Instituto Alfa de Gastroenterologia, do

Centro Geral de Pediatria da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais e do Hospital Felício Rocho. Essas parcerias permitirão o acompanhando de praticamente todos os casos de infecção sintomática por *Helicobacter pylori* na infância e adolescência em nosso meio e, possivelmente encontrar respostas para questões relevantes, mas ainda não respondidas como a participação da bactéria na dor abdominal crônica recorrente e na dispepsia não ulcerosa, assim como co-fator de risco para anemia ferropriva refratária ao tratamento ferruginoso. Existem também inúmeras lacunas quanto à escolha do melhor esquema de tratamento na faixa etária pediátrica. Questões como tratar, acompanhar a erradicação do microrganismo e conduzir insucessos terapêuticos na infância permanecem também sem respostas. Assim, nossos principais objetivos futuros são: a) determinar a prevalência da infecção pelo *Helicobacter pylori* entre crianças e adolescentes com queixas dispépticas submetidas à endoscopia digestiva alta, associando os resultados com as diversas afecções (esofagite, gastrite, úlcera duodenal, dispepsia não ulcerosa, anemia ferropriva), b) avaliar fatores genéticos ligados aos pacientes e às cepas bacterianas; c) propor esquemas terapêuticos com base na determinação da susceptibilidade das amostras aos antimicrobianos, d) avaliar causas de falha terapêutica, taxas de re-infecção e ou recidivas entre outras, e) determinar as características dos pacientes e das cepas bacterianas. Salientamos ainda a possibilidade de proposição de esquemas terapêuticos baseados na determinação da susceptibilidade, *in vitro*, do *Helicobacter pylori* aos antimicrobianos e determinar as taxas de re-infecção e/ou recidivas entre outras.

TRABALHO 1

ARTIGO DE REVISÃO



Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents

Úlcera péptica gastroduodenal e infecção pelo *Helicobacter pylori* na criança e adolescente

Paulo F. S. Bittencourt¹, Gifone A. Rocha², Francisco J. Penna³, Dulciene M. M. Queiroz⁴

Resumo

Objetivo: Apresentar aspectos relevantes relativos à úlcera péptica gastroduodenal e à infecção pelo *Helicobacter pylori* na criança e adolescente.

Fontes dos dados: Livros técnicos e bases de dados MEDLINE e LILACS de 1966 a 2006.

Síntese dos dados: A úlcera péptica na criança e adolescente pode ser primária, associada à infecção pelo *H. pylori*, ou secundária, na qual os mecanismos etiopatogênicos dependem da doença de base. A infecção é adquirida predominantemente na infância, com taxas de prevalência que variam de 56,8 a 83,1% nas crianças que vivem nas regiões mais pobres do Brasil e de aproximadamente 10% nas crianças abaixo de 10 anos de idade nos países desenvolvidos. A infecção pode ser diagnosticada por métodos invasivos, que investigam a presença da bactéria, ou de DNA, RNA ou produtos bacterianos em fragmentos de biópsia da mucosa gástrica obtida à endoscopia; também pode ser diagnosticada através de métodos não-invasivos, que compreendem a pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori* em amostras de soro, urina ou saliva, a pesquisa de antígenos da bactéria nas fezes e o teste respiratório com uréia marcada com carbono-13. O método de escolha para o diagnóstico da úlcera péptica é a endoscopia digestiva alta, com a vantagem adicional de, durante o procedimento, permitir a obtenção de fragmentos de mucosa gástrica para o diagnóstico da infecção e estudo histopatológico.

Conclusões: A infecção por *H. pylori* é a principal causa de úlcera péptica na infância. A erradicação da bactéria com antimicrobiano é acompanhada de cura da doença, sendo, portanto, indicada em todas as crianças *H. pylori*-positivas com úlcera péptica em atividade, recorrente, cicatrizada ou complicada.

J Pediatr (Rio J). 2006;82(5): Úlcera péptica, etiologia, fisiopatologia, diagnóstico, *Helicobacter pylori*, criança, adolescente.

Introdução

Foi atribuído a Hipócrates, em 460 a.C., o relato de um caso cujo diagnóstico foi posteriormente confirmado como sendo úlcera péptica (UP). No século XVIII, os clínicos,

Abstract

Objective: To show important aspects of gastroduodenal peptic ulcer and of *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents.

Sources: Technical textbooks and MEDLINE and LILACS databases including publications between 1966 and 2006.

Summary of the findings: The etiology of peptic ulcer in children and adolescents may be primary, associated with *H. pylori* infection, or secondary, in which etiopathogenic mechanisms rely upon the underlying disease. The infection is acquired predominantly in childhood, with prevalence rates between 56.8 and 83.1% in children who live in the poorest Brazilian regions, amounting to nearly 10% in children aged less than 10 years in industrialized countries. The infection can be diagnosed by invasive methods, which investigate the presence of the bacterium, or of DNA, RNA or bacterial products in biopsy fragments of the gastric mucosa obtained at endoscopic examination; it can also be diagnosed through noninvasive methods, which include the detection of anti-*H. pylori* antibodies in serum, urine or saliva samples, detection of bacterial antigens in stool samples, and the carbon 13-labeled urea breath test. However, upper gastrointestinal endoscopy is the method of choice for the diagnosis of peptic ulcer, as it allows collecting fragments from the gastric mucosa during the procedure for the diagnosis of infection and for histopathological analysis.

Conclusions: *H. pylori* infection is the major cause of peptic ulcer among children. Eradication of the bacterium with antimicrobial therapy results in the cure of the disease, and is therefore indicated for all children with *H. pylori* infection with an active, recurrent, healed, or complicated peptic ulcer.

J Pediatr (Rio J). 2006;82(5): Peptic ulcer, etiology, pathophysiology, diagnosis, *Helicobacter pylori*, children, adolescents.

reconhecidos pelo apuro semiológico, dificilmente deixavam de descrever o quadro clínico da UP perfurada, quase invariavelmente fatal naquela época. Compêndios de medicina legal, como o de Albertus, em 1725, menciona a úlcera perfurada como causa rara de morte, devendo ser diferenciada de envenenamentos.

Deve-se salientar também que, na segunda metade do século XIX, as úlceras eram predominantemente gástricas. Somente depois de algumas décadas ocorreu o predomínio da úlcera duodenal¹. Em 1962, especialistas analisando o fenômeno sugeriram que, no Ocidente, um fator ambiental presente no final do século XIX e início do século XX causava um efeito coorte sobre as pessoas nascidas naquele período. Fatores ambientais associados à urbanização precoce, estresse social e crise econômica pós-Primeira Guerra

1. Doutorando, Programa de Pós-Graduação da Saúde da Criança e Adolescente, Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte, MG.
2. Doutor, professor adjunto, Departamento de Propedêutica Complementar, Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte, MG.
3. Doutor, professor titular, Departamento de Pediatria, UFMG, Belo Horizonte, MG.
4. Doutor, professor titular, Departamento de Propedêutica Complementar, Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte, MG.

Artigo submetido em 19.07.05, aceito em 15.08.06.

Como citar este artigo: Bittencourt PF, Rocha GA, Penna FJ, Queiroz DM. Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82.

Mundial foram então erroneamente postulados como fatores envolvidos na gênese da doença².

O estudo radiológico contrastado foi o primeiro método complementar usado no diagnóstico da UP. Posteriormente, com o surgimento e aprimoramento da endoscopia digestiva, foi visto que os métodos radiológicos apresentavam taxas elevadas de resultados falso-positivos (21%) e falso-negativos (32%)³. Schindler foi o primeiro a descrever as características da UP à endoscopia, que atualmente é o método de escolha para o diagnóstico da doença⁴.

Até pouco mais de 2 décadas, a patogenia da UP era atribuída a um desequilíbrio entre a secreção ácida e os mecanismos de defesa da mucosa, cuja causa ou causas não eram conhecidas. Entretanto, em 1982, na Austrália, Warren & Marshall isolaram uma bactéria, posteriormente denominada *Helicobacter pylori*, a partir de fragmentos de mucosa gástrica de pacientes com gastrite e úlcera duodenal⁵. Estudos subsequentes em várias partes do mundo confirmaram a hipótese inicial de que essa bactéria estaria associada à gênese da doença péptica ulcerosa em adultos^{6,7} e crianças^{8,9}. Em 1994, o papel da infecção pelo microorganismo na patogênese do carcinoma gástrico foi admitido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) com base em evidências epidemiológicas e plausibilidade biológica¹⁰⁻¹²; mais recentemente, a doença foi reproduzida experimentalmente em modelo animal¹³.

A descrição do microrganismo e de sua associação com a doença péptica ulcerosa foi tão relevante para a medicina que os pesquisadores australianos receberam, no ano de 2005, o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina.

Epidemiologia

A prevalência da UP é difícil de ser estimada, tendo em vista a subjetividade dos sintomas e a freqüente confusão com outros quadros dispépticos. Além das evidências atuais de declínio de incidência da doença, também a proporção entre homens e mulheres vem se alterando nas últimas décadas. Os dados disponíveis baseiam-se em estatísticas obtidas a partir dos quadros de úlcera perfurada, os quais, embora sujeitos a críticas por não representarem todo espectro da doença ulcerosa, constituem o material mais uniforme para tais avaliações¹⁴.

Não se conhece a real incidência da UP em crianças. Sabe-se, entretanto, que a doença é rara abaixo dos 10 anos de idade. Grandes centros médicos de pediatria na América do Norte diagnosticam uma média de quatro a seis casos novos por ano^{15,16}. No Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, a média anual é de 7,6 novos casos por ano¹⁷, muito semelhante à observada na Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina (7,2 pacientes por ano)¹⁸. Quanto ao sexo, alguns estudos mostram que a doença acomete mais freqüentemente os meninos^{16,18}.

Como já mencionado, o *H. pylori* é considerado um fator essencial na gênese da UP. Na maioria das crianças com UP duodenal, a pesquisa da bactéria é positiva. Como no

adulto, úlcera duodenal *H. pylori*-negativa é incomum na criança. Pode, entretanto, ocorrer em outras afecções, como doença de Crohn, ou secundariamente ao uso de medicamentos, como antiinflamatórios não-hormonais¹⁹.

Depois do reconhecimento do papel do *H. pylori* na gênese da UP, vários estudos demonstraram associação entre a doença ulcerosa e a infecção por cepas mais virulentas da bactéria. A urbanização rápida e descontrolada, seguida de condições precárias de vida nas cidades em expansão no início da Revolução Industrial, no começo do século XX, provavelmente acarretou uma queda nos padrões de higiene em boa parte da população, o que pode ter contribuído para um aumento da exposição a cepas mais virulentas de *H. pylori*. Subseqüentemente, os avanços no conhecimento da importância de medidas higiênicas para prevenir a disseminação de doenças desencadearam esforços governamentais com objetivo de melhorar as condições sanitárias e o suprimento de água nas residências urbanas. Tais medidas, provavelmente, resultaram na redução das taxas de infecção pelo *H. pylori*. Assim, a elevação e declínio da prevalência da UP representariam marcas históricas da elevação e queda das taxas de infecção pelo *H. pylori*. O baixo nível socioeconômico e suas conseqüências naturais, como condições de higiene precárias, aglomeração nas moradias e ausência ou deficiência de saneamento básico, são fatores que favorecem a aquisição da bactéria, sendo considerados atualmente os principais marcadores da presença de infecção pelo *H. pylori*²⁰.

O homem é o principal reservatório desse agente. A transmissão ocorre de pessoa para pessoa, sendo aceitas as vias fecal-oral²¹ e oral-oral²². A infecção é adquirida predominantemente na infância²³⁻²⁵. Estudos tanto no nosso meio^{23,14} como em países desenvolvidos²³ demonstram a importância da mãe^{23,24} e irmãos²⁴⁻²⁶ em sua transmissão. As taxas de infecção aumentam significativamente com a idade, o que é atribuído ao efeito coorte, ou seja, a maior prevalência observada em indivíduos mais velhos reflete o maior risco de aquisição da infecção que essas pessoas tiveram quando crianças.

No Brasil, há poucos estudos avaliando a prevalência da infecção em crianças saudáveis. Vale salientar, ainda, que os métodos diagnósticos adequados para estudos epidemiológicos em crianças compreendem o teste respiratório com uréia marcada com carbono-13 e a pesquisa de antígenos nas fezes, em decorrência da baixa acurácia dos testes sorológicos em crianças com menos de 10 anos de idade²⁷. Respeitando essas premissas, há estudos apenas em regiões mais pobres do país. Na periferia de Fortaleza e na área rural de Melquiades (MG), as taxas de prevalência da infecção entre as crianças são superiores a 56,8%^{24,25}, e deve-se salientar que atingem 75,4% nas crianças entre 12 e 14 anos de idade²⁵. A prevalência é ainda mais elevada em populações ribeirinhas e indígenas de Rondônia, onde atinge o percentual de 83,1%²⁸. Cálculos de incidência mostram que a infecção é adquirida muito precocemente nas regiões menos favorecidas do país, variando entre 5,7% ao ano em crianças de até 5 anos de idade em Melquiades e 25,0% ao ano em crianças de até 2 anos de idade nas regiões ribeirinhas de Rondônia^{24,28}.

Por outro lado, em países desenvolvidos, a infecção ocorre em apenas 10% das crianças abaixo de 10 anos de idade, e um declínio acentuado da prevalência vem sendo verificado²⁹.

Etiopatogenia

As UP podem ser primárias, associadas à infecção pelo *H. pylori*, com curso clínico crônico, acometendo principalmente o duodeno, sem doença sistêmica associada e mais prevalente em crianças acima de 10 anos de idade; ou secundária, de curso clínico agudo, mais frequentemente localizada no estômago de crianças com menos de 6 anos de idade, principalmente neonatos e lactentes, na qual os mecanismos etiopatogênicos dependem da doença de base^{17,30}. Embora predominem os fatores de agressão à mucosa na doença primária e alterações dos mecanismos de defesa da mucosa na UP secundária³⁰, de maneira geral a doença decorre de um desequilíbrio entre os mecanismos de defesa e os fatores de agressão da mucosa gastroduodenal. No estômago, a principal barreira de proteção é constituída pela confluência entre as células epiteliais e a secreção contínua de muco-íon bicarbonato (HCO_3^-). Essa camada, cuja espessura é de aproximadamente 200-300 μm , confere proteção eficiente³¹. Foi demonstrado que o muco que reveste as células da superfície do epitélio contém fosfolípidos bipolares que, devido à elevada polaridade, previnem a retrodifusão de ácidos minerais, como ácido clorídrico (HCl), da luz do estômago para o interior da mucosa. Entretanto, compostos orgânicos não-ionizados, como sais biliares ou ácido acetilsalicílico, que têm pKa relativamente baixo, podem alcançar rapidamente, por difusão não-iônica, as células da superfície da mucosa e se acumularem no interior dessas células, onde são dissociados e provocam lesão celular³². O conceito de barreira foi desenvolvido por Code & Scholer³³ e Davenport³⁴, que propuseram a ruptura da barreira representando a etapa inicial do processo de lesão da mucosa com subsequente liberação, em cascata, de substâncias semelhantes à histamina, sangramento da mucosa e instalação de um quadro de gastrite aguda. Esses achados podem ser observados em seres humanos depois da ingestão de aspirina ou etanol concentrado, bem como em animais experimentalmente expostos a vários irritantes de mucosa^{35,36}.

Por outro lado, diferentemente do que ocorre na mucosa gástrica, onde a proteção se deve à barreira mucosa, os íons hidrogênio (H^+) penetram facilmente nas células da mucosa duodenal, levando à diminuição transitória do pH. Essa alteração ativa os co-transportadores basolaterais de íon sódio (Na^+)- HCO_3^- , com consequente migração exagerada de HCO_3^- do espaço extra para o intracelular, ativando a troca $\text{HCO}_3^-/\text{íon cloreto} (\text{Cl}^-)$ na porção apical da membrana celular. Esses eventos culminam com o aumento da secreção de HCO_3^- , que, juntamente com a camada de muco, é capaz de neutralizar os íons H^+ que chegam à luz do duodeno, assegurando a neutralidade e a integridade da mucosa^{37,38}.

Embora a patogênese da doença ulcerosa não esteja completamente esclarecida, a infecção pelo *H. pylori* no

adulto leva a alterações importantes da fisiologia gástrica, em especial dos mecanismos de secreção ácida que estão intimamente ligados à gênese da doença. Na infecção, especialmente por amostras citotoxigênicas *cytotoxin-associated gene A (cagA)*-positivas, há aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucina-8 (IL-8), IL-1 β e fator de necrose tumoral alfa ($\text{TNF-}\alpha$)^{39,40}, que afetam enormemente o muco e a concentração de HCO_3^- da superfície celular, bem como a secreção ácida. Isso é uma decorrência de atuarem nas células D, inibindo a produção de somatostatina com consequente hipergastrinemia e aumento da secreção ácida^{41,42}. Entre outras consequências da infecção, vale mencionar que a bactéria induz a liberação de vários compostos, entre eles a enzima ciclo-oxigenase 2 (COX-2), que pode comprometer a proteção da mucosa pela formação de outras substâncias pró-inflamatórias, como espécies reativas do oxigênio (ROS)³¹.

Quando a infecção é limitada à mucosa antral e acompanhada por aumento significativo de gastrina plasmática, a secreção de ácido torna-se excessivamente elevada. Como a infecção também reduz a secreção duodenal de HCO_3^- e de muco, a mucosa duodenal torna-se permeável e é agredida pelos íons H^+ e outros irritantes, sendo substituída por mucosa gástrica metaplásica. A bactéria presente na mucosa do estômago migra e coloniza as áreas de metaplasia gástrica no duodeno, onde estimula a resposta inflamatória local predispondo à formação do nicho ulceroso.

A diminuição das células D e a inibição de produção de somatostatina acompanhada de hipergastrinemia são observadas em crianças *H. pylori*-positivas⁴³. Como crianças com úlcera duodenal também são colonizadas mais frequentemente por amostras mais virulentas do microrganismo, pelo menos em parte, os mecanismos de ulcerogênese na infância assemelham-se aos do adulto.

Fatores de virulência do *H. pylori*

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

O gene *cagA* é um marcador da presença da ilha de patogenicidade (*cag-PAI*)⁴⁰. Os genes da ilha codificam proteínas com várias funções, entre elas a translocação da proteína *cagA*, de 120 kDa, para dentro do citoplasma das células epiteliais gástricas, onde depois de ser fosforilada pelas quinases *c-src* e *Lyn*, liga-se e ativa a fosfatase celular SHP-2, provocando rearranjo no citoesqueleto e formação de pedestais que permitem maior aderência bacteriana⁴⁴. Vários genes da ilha estão, ainda, envolvidos na estimulação da produção de IL-8 pelas células epiteliais gástricas. A IL-8 é um potente fator quimiotático e ativador de leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, contribuindo para uma resposta inflamatória mais acentuada nos pacientes colonizados por amostras *cag-PAI*-positivas. Assim, pacientes infectados por amostras *cagA*-positivas apresentam maior densidade bacteriana na mucosa gástrica, lesões mais graves do epitélio, infiltrado de leucócitos polimorfonucleares mais intenso e níveis mais elevados de citocinas pró-

inflamatórias, o que torna plausível a associação que tem sido freqüentemente relatada entre a infecção por amostras *cagA*-positivas e doença ulcerosa péptica em crianças^{45,46} e adultos^{6,7,47}, ou carcinoma gástrico em adultos⁴⁸⁻⁵⁰. No Brasil, 95,0 e 62,3% das amostras isoladas de crianças com e sem úlcera duodenal, respectivamente, são *cagA*-positivas⁴⁵.

O gene *vacuolating cytotoxin A (vacA)*, presente em todas as amostras de *H. pylori*, codifica a proteína VacA, uma exotoxina capaz de induzir diretamente a formação de vacúolos intracitoplasmáticos e apoptose das células epiteliais⁵¹. A toxina aumenta também a permeabilidade epitelial, o que pode facilitar tanto a passagem de substâncias tóxicas para dentro do epitélio como a difusão de nutrientes para a camada mucosa, favorecendo a sobrevivência do *H. pylori*. O *vacA* tem função imunomoduladora, ora estimulando a resposta inflamatória da mucosa gástrica por diferentes mecanismos, como, por exemplo, pelo aumento da expressão de COX-2 em células T, em neutrófilos e em macrófagos, ora inibindo a resposta de células T mediada por IL-2⁵². No *vacA*, há duas famílias de seqüências sinalizadoras, denominadas s1 e s2, com as variações s1a, s1b e s1c, bem como dois alelos localizados na região média do gene, m1 e m2⁵³. As amostras de *H. pylori vacA* tipo s1 são consideradas mais virulentas que as s2, sendo mais freqüentemente observadas nos pacientes com UP e carcinoma gástrico do que naqueles com gastrite^{53,54}. Na nossa população, 85,0 e 58,3% das crianças com e sem úlcera duodenal, respectivamente, são colonizadas por amostras do tipo s1⁵⁵.

A adesina *blood-group antigen-binding adhesin A (BabA)* do *H. pylori* liga-se aos antígenos Lewis b e H-1, expressos na mucosa gástrica. A aderência da bactéria mediada por *BabA* parece desempenhar um papel crítico na transferência de fatores de virulência bacterianos, que lesam a mucosa gástrica, seja diretamente ou em decorrência da resposta inflamatória e/ou auto-imunidade⁵⁶. Além disso, bactérias que se mantêm firmemente aderidas ficam menos expostas à acidez gástrica e não são eliminadas pelos movimentos peristálticos⁵⁷. A presença do gene *babA2*, que codifica *BabA*, tem sido associada à úlcera duodenal em adultos^{47,58}. Em um estudo do nosso grupo, foi demonstrada a presença do gene em todas as amostras do *H. pylori* avaliadas, independentemente de ter sido isolada de crianças com ou sem úlcera duodenal⁵⁹.

A aderência da bactéria à mucosa gástrica é também mediada pela proteína *sialic acid-binding adhesin A (SabA)*, que se liga a resíduos glicoconjugados de ácido siálico expressos na superfície das células epiteliais em vigência de processo inflamatório ou neoplásico. A expressão de ácido siálico, rara na mucosa gástrica normal, é induzida pela infecção pelo *H. pylori*, o que contribui para a sua cronicidade. A adesina *SabA* participa da ativação de neutrófilos por mecanismos que não envolvem a opsonização da bactéria⁶⁰.

Genes que codificam proteínas de membrana externa do microrganismo, como *outer inflammatory protein A (OipA)* e *adhering lipoprotein AB (AlpAB)*, têm sido associados à maior virulência das amostras, embora não sejam conheci-

das as funções dos seus produtos⁶¹.

Recentemente, foi descrito um provável fator de virulência de *H. pylori* denominado *duodenal ulcer promoting gene A (dupA)*. O *dupA*, também localizado na região do genoma bacteriano que codifica proteínas de superfície, corresponde à fusão dos genes *jhp0917* e *jhp0918* com a inserção de uma base citosina (C) ou timina (T). Na descrição do gene, os autores mostraram associação com úlcera duodenal em adultos⁶². Esses achados, entretanto, não foram confirmados em crianças e adultos da população brasileira, indicando possíveis diferenças geográficas⁶³.

Fatores genéticos

Fatores genéticos estão envolvidos na gênese da UP. A doença acomete mais freqüentemente crianças com história familiar da mesma, e a concomitância entre gêmeos monozigóticos é três vezes superior à observada entre gêmeos dizigóticos⁶⁴.

Além disso, a doença é mais freqüente nos indivíduos do grupo sanguíneo O, que equivale ao antígeno de Lewis b. Tem-se atribuído essa maior freqüência ao fato de a carga bacteriana ser maior nesses indivíduos, visto que, como já relatado, a proteína *BabA* do *H. pylori* apresenta uma adesina, denominada *BabA*, que se liga aos antígenos de Lewis b⁵⁶.

Deve ser ressaltado, também, que fatores genéticos do hospedeiro podem determinar as respostas imunológica e inflamatória à infecção, passíveis de contribuir para o desfecho de uma doença grave. Trabalhos recentes demonstram que polimorfismos em regiões promotoras de genes que codificam citocinas pró-inflamatórias podem alterar a transcrição gênica, com consequente aumento da expressão da citocina^{65,66}. Assim, alelos polimórficos nas posições -31 e -511 do gene *IL1B* representam fenótipos que secretam quantidades elevadas de *IL-1B*. Similarmen-te, o alelo 2 polimórfico do gene *IL1RN*, que codifica o antagonista do receptor da *IL-1 (IL-1ra)*, também eleva a produção da *IL-1B*^{65,66,67} identificados. Esses polimorfismos têm sido associados a risco aumentado de carcinoma gástrico⁶⁸⁻⁷⁰. Por outro lado, existem poucos estudos avaliando a participação desses polimorfismos no risco de UP. Recentemente, nosso grupo demonstrou que a presença do alelo 2 polimórfico do gene *IL1RN* confere aumento de risco (2,5 vezes) para a úlcera duodenal em crianças⁷¹. É provável que o aumento leve à inflamação mais exuberante no antro, com diminuição dos níveis de somatostatina e aumento de gastrina, acompanhado de aumento da secreção ácida pela mucosa oxíntica, predispondo, assim, ao desenvolvimento da UP. Em adultos, entretanto, essa associação não foi observada^{72,73}, inclusive na nossa população⁷⁴. Essas diferenças podem apontar mecanismos etiopatogênicos distintos da UP em crianças e adultos.

Aspectos clínicos

Os sintomas clínicos da UP primária nas crianças podem variar consideravelmente de acordo com a idade da criança. A doença apresenta curso clínico insidioso, alternando períodos sintomáticos e de acalmia.

Os recém-nascidos e lactentes podem ter, como primeira manifestação da doença, hemorragia, perfuração visceral ou ambas, mesmo na ausência de qualquer fator desencadeante, como o estresse, que é considerado a principal causa nessa faixa etária. Na infância, as lesões localizam-se mais freqüentemente no estômago, podendo ser únicas, porém com freqüência ocorrem como erosões múltiplas, pequenas e com sangramento⁷⁵. Nos lactentes até os 6 anos de idade, a UP pode se manifestar inicialmente com náusea e vômitos, mas a hematêmese é o sinal mais comum, embora, em geral, os sintomas sejam de difícil caracterização. Nas crianças em idade escolar, acima de 7 anos, embora atípica e mal localizada, a dor abdominal está presente em quase todos os casos. Nesse grupo etário, os modos de apresentação mais comuns são os vômitos e a hemorragia, esta manifestada por hematêmese ou melena⁷⁵. As crianças maiores e adolescentes apresentam sintomas mais semelhantes aos dos adultos. A dor abdominal é mais localizada no epigástrio, podendo ser referida ainda no quadrante inferior direito. Pode ser intermitente ou, mais raramente, contínua; também pode ser cídica, com períodos de remissão que duram semanas ou meses. Não há correlação com a ingestão de alimentos, e muitas vezes se manifesta nas primeiras horas da manhã. Alguns autores relatam que o aspecto mais consistente da dor na UP da criança é sua variabilidade⁷⁵. Em um estudo realizado no Brasil, avaliando 43 crianças e adolescentes de 4 a 17 anos, os autores demonstraram que a dor abdominal estava presente em 90,7% dos casos¹⁸; localizava-se com mais freqüência no epigástrio (79,5%); em 56,4% das crianças, sob a forma de queimação; em 51,3%, melhorava com a ingestão de alimentos; hiporexia (74,4%) e vômitos (69,8%) foram os sintomas mais comumente associados à dor¹⁸. Outros sintomas, como pirose, sialorréia, sensação de plenitude, anorexia, perda de peso, distensão abdominal, eructação, meteorismo e anemia ferropriva ocorrem mais raramente^{17,76}.

O diagnóstico diferencial de UP primária deve ser feito com entidades clínicas que cursam com vômitos, dor abdominal e/ou sangramento digestivo alto, como parasitoses, esofagite péptica, varizes esofagianas e/ou gástricas, síndrome de Zollinger-Ellison, intolerância alimentar, gastroenteropatia alérgica, doença de Crohn, pancreatite, doenças de vias biliares e gastrites (linfocítica, hipertrófica ou auto-imune), entre outras³⁰.

A UP secundária cursa com quadro clínico mais agudo e, na grande maioria dos casos, a hemorragia digestiva alta é a principal manifestação, acompanhada ou não de dor abdominal. A doença clínica subjacente e a profundidade e extensão das lesões ulcerosas determinam a gravidade e prognóstico do evento hemorrágico¹⁷.

Aspectos endoscópicos

O estudo radiológico contrastado do estômago e duodeno já foi muito usado para o diagnóstico das lesões ulceradas antes do advento da esofagogastroduodenoscopia. Entretanto, mesmo com a técnica de duplo contraste, que apresenta sensibilidade mais elevada, os resultados não

são satisfatórios. Soma-se a isso o fato de serem de difícil realização em crianças menores, além da exposição à radiação¹⁶. A endoscopia digestiva alta (EDA) é o método de investigação de escolha para o diagnóstico da doença ulcerosa péptica, mesmo em crianças muito pequenas⁷⁷. Embora seja um exame invasivo e de custo elevado, principalmente em crianças, porque na maioria das vezes é realizado no hospital e sob anestesia geral, o método é seguro e confiável. Além de estabelecer o diagnóstico e localização da úlcera, a EDA permite a obtenção de fragmentos de biópsia para estudo histopatológico e pesquisa de *H. pylori*⁷⁸. Ainda com os videoendoscópios modernos, as imagens podem ser armazenadas para reavaliações posteriores.

O achado endoscópico mais freqüentemente observado em crianças infectadas pelo *H. pylori* é uma lesão de aspecto nodular, localizada predominantemente na mucosa do antro gástrico e caracterizada por irregularidade (*cobblestone*) que se torna mais evidente quando recoberta com sangue oriundo do local da biópsia⁷⁷.

As UP são soluções de continuidade da mucosa gastrointestinal que se estendem através da *muscularis mucosae*, atingindo a submucosa e mesmo a *muscularis propria*. Na maioria das vezes, a lesão é única; entretanto, eventualmente podem ocorrer várias lesões. Nos adultos, as úlceras gástricas devem ser diferenciadas das lesões neoplásicas. Nas crianças, as lesões malignas são muito raras, mas as características das bordas, base e mucosa que circunda a lesão devem ser conhecidas por todos os endoscopistas. Nas lesões pépticas, geralmente arredondadas ou ovaladas, a base é composta por tecidos de granulação, é plana, lisa, regular e, na maioria das vezes, coberta por exsudato fibrinóide branco ou branco-acinzentado. Nas fases iniciais de atividade da úlcera, a fibrina é espessa e com restos necróticos ou depósito de hematina, e as bordas são lisas, regulares, bem definidas, a pique e um pouco mais elevadas com relação à base. Na mucosa que circunda a lesão, as terminações das pregas atingem as bordas de maneira regular. A maioria das úlceras pépticas gástricas localiza-se na pequena curvatura, na *incisura angularis*, no terço inferior do corpo, antro proximal e região pré-pilórica. Na metade dos casos, as úlceras duodenais localizam-se na parede anterior do bulbo⁷⁹. O aspecto endoscópico da úlcera depende do momento em que é observada, isto é, da fase em que se encontra de acordo com o ciclo vital descrito por Sakita⁸⁰. Esse ciclo é dividido em três fases: uma fase inicial, denominada ativa (*A-active*), seguida de uma fase intermediária, em que a úlcera se encontra em processo de cicatrização (*H-healing*) e, finalmente, a última fase, em que a úlcera se apresenta cicatrizada (*S-scar*). Todos esses estágios, de acordo com suas características, são subdivididos em outras duas fases. Ao completar o processo de cicatrização da úlcera duodenal, o bulbo pode ter sua arquitetura deformada e, em casos extremos, acarretar estenose do segmento.

Diagnóstico da infecção por *H. pylori*

Há diversos métodos para o diagnóstico da infecção. Os

microbiológicos e histopatológicos, bem como as técnicas de biologia molecular para a pesquisa direta do microrganismo na mucosa gástrica, são considerados métodos invasivos, pois os fragmentos de mucosa são obtidos por esofagogastroduodenoscopia. Os métodos não-invasivos, ou indiretos, compreendem a pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori* em amostras de soro, urina e saliva, a pesquisa de antígenos de *H. pylori* nas fezes e o teste respiratório com uréia marcada com carbono-13, isótopo não-radioativo.

Para o diagnóstico mais acurado da infecção, tem sido recomendado o uso de, pelo menos, dois testes. É necessário, também, que os testes não-invasivos sejam validados para a população a ser avaliada.

Teste da urease pré-formada e pesquisa de *H. pylori* em cortes histológicos e em esfregaços corados

Como a carga bacteriana é menor em crianças, a sensibilidade dos testes aumenta quando são avaliados pelo menos dois fragmentos de mucosa, um do antro e um do corpo gástrico. Resultados falso-negativos podem ocorrer em razão da distribuição irregular da bactéria na mucosa gástrica ou ao uso de antimicrobianos ou de inibidor de bomba de próton no caso do teste da urease.

A acurácia da pesquisa do microrganismo em cortes histológicos depende principalmente da experiência do patologista^{17,81}. Vale ressaltar que a coloração com carbol-fucsina tem se mostrado sensível, específica, simples e de baixo custo para a pesquisa de *H. pylori* em esfregaços ou cortes histológicos^{82,83}.

Cultura

O isolamento do *H. pylori* a partir de fragmentos de mucosa gástrica é o método mais específico para o diagnóstico da infecção. Permite, também, o estudo da amostra quanto à presença de fatores de virulência e à susceptibilidade a antimicrobianos, visando uma terapêutica melhor orientada.

O uso de pelo menos dois fragmentos de mucosa gástrica, um do antro e um do corpo, o transporte adequado dos espécimes, o uso de um meio seletivo e indicador, bem como a experiência do grupo são condições fundamentais para se obter sucesso no isolamento da bactéria.

Apesar da especificidade elevada do método, os valores relatados de sensibilidade variam de 77,0 a 100%⁸⁴⁻⁸⁶. Queiroz et al., no Brasil, têm observado sensibilidade de 94,6%⁸⁷.

Técnicas de biologia molecular

São usadas para o diagnóstico da infecção, genotipagem dos marcadores de virulência do *H. pylori* e determinação de susceptibilidade da bactéria aos antimicrobianos, tanto em amostras isoladas quanto em fragmentos de biópsia. A reação da polimerase em cadeia (PCR) apresenta sensibilidade superior a 95,0% para o diagnóstico da infecção^{75,88,89}. A pesquisa de DNA da bactéria em tecido pode ser feita também por reação de hibridação *in situ* com fluorescência (FISH), que apresenta sensibilidade semelhante à da PCR⁹⁰.

A identificação de fatores de virulência da bactéria, como *cagA* e *vacA*, pode ser feita por diversos métodos de biologia molecular, como PCR^{45,55,91,92}, PCR seguida de hibridação (LiPA - *line probe assay*)⁹³, PCR em tempo real e rtPCR⁹⁴. Como há variações regionais na seqüência dos genes que codificam esses fatores, os iniciadores das reações devem ser testados para as diferentes populações. A amplificação seguida de seqüenciamento é necessária para identificar outros genes de virulência do *H. pylori*, como *BabA*⁵⁹, *dupA*^{62,63}, *SabA* e *oipA*⁹⁵.

Teste respiratório com uréia marcada com carbono-13

Estudos realizados em adultos⁹⁶ e em crianças com idade superior a 6 anos^{97,98} demonstram que o teste respiratório apresenta sensibilidade e especificidade superiores a 95,0% para o diagnóstico da infecção.

Apesar de existirem relatos na literatura de menor especificidade do teste respiratório com uréia marcada com carbono-13 em crianças com menos de 6 anos idade^{99,100}, outros trabalhos demonstram especificidade semelhante à observada em adultos, independentemente da idade da criança¹⁰¹. Resultados excelentes foram vistos na nossa população, tanto para crianças com menos de 6 anos de idade (sensibilidade de 88,0% e especificidade de 95,0%) como para as mais velhas (sensibilidade de 100% e especificidade de 98,0%)¹⁰².

O teste respiratório com uréia marcada carbono-13 é considerado atualmente o método de escolha para avaliação da resposta ao tratamento, tanto em adultos quanto em crianças.

Resultados falso-negativos são observados quando o paciente está em uso de inibidor de bomba de prótons (IBP) e antimicrobianos que podem levar à diminuição da densidade bacteriana. Os primeiros devem ser suspensos 15 dias e os antimicrobianos 1 mês antes da realização do teste. Por outro lado, o uso de antagonistas de receptores de histamina-2 (H₂) e de antiácidos interfere pouco no resultado do teste, sendo recomendada suspensão de ambos nas 48 horas que precedem o exame.

Deteção de antígenos de *H. pylori* nas fezes

A detecção de antígenos de *H. pylori* em amostras de fezes é feita por método imunoenzimático empregando anticorpos mono ou policlonais, e há vários kits comerciais disponíveis. Como é um teste não-invasivo, pode ser usado também em estudos epidemiológicos. Há relatos de menor sensibilidade do teste para o diagnóstico da infecção em crianças com idade inferior a 6 anos¹⁰³. Entretanto, o teste apresenta valores de sensibilidade e especificidade elevados (aproximadamente 95,0%) na nossa população, mesmo para as crianças com idade inferior a 6 anos¹⁰². Deve-se salientar que o transporte e a manutenção adequados das amostras são etapas essenciais na obtenção de bons resultados.

Sangramentos no trato gastrointestinal e uso de antimicrobianos e de IBP diminuem a sensibilidade do teste, que não é alterada, entretanto, por antagonistas dos receptores H₂ e antiácidos.

Testes imunocromatográficos para detecção de antígenos nas fezes, lançados no comércio recentemente, são de execução fácil e permitem a obtenção de resultados em poucos minutos. Apresentam sensibilidade e especificidade semelhantes às observadas com os testes imunoenzimáticos^{104,105}.

Pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori*

A infecção pelo *H. pylori* induz, no hospedeiro, uma resposta imunológica celular e humoral, que resulta na produção de anticorpos anti-*H. pylori* das classes IgM, IgA e IgG. Os primeiros podem ser detectados precocemente. Os anticorpos específicos da classe IgA e IgG atingem níveis detectáveis, aproximadamente, 3 semanas a 3 meses depois do início da infecção aguda e podem ser observados até cerca de 2 anos depois da erradicação da bactéria.

Dentre os vários métodos disponíveis, o ensaio imunoenzimático (ELISA) encontra-se entre os mais usados, pela rapidez, simplicidade, reprodutibilidade, baixo custo e precisão elevada, existindo inúmeros kits disponíveis comercialmente. Entretanto, não deve ser usado para o diagnóstico da infecção nas crianças com menos de 12 anos de idade, visto que a sensibilidade do teste é muito baixa nessa faixa etária (44,4% para as crianças entre 2 e 6 anos de idade e 76,7% para aquelas entre 7 e 11 anos)²⁷. Os testes imunoenzimáticos para a pesquisa de anticorpos na urina¹⁰⁶ e saliva¹⁰⁷, por serem ainda menos sensíveis e específicos, também não são indicados para o diagnóstico da infecção na infância. Por outro lado, a sensibilidade e a especificidade da pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori* por *immunoblotting* são aceitáveis para o diagnóstico em crianças. Na nossa população, valores de sensibilidade de 95,0% e de especificidade de 86,0% foram observados para crianças de 2 a 16 anos de idade¹⁰⁸.

Tratamento

Úlcera péptica associada à infecção por *H. pylori*

O *H. pylori* é a principal causa de UP, e sua erradicação resulta na cura dos pacientes, sendo indicada em todas as crianças com a doença em atividade, recorrente, cicatrizada ou complicada.

Embora não exista um esquema terapêutico ideal, vários têm sido usados com sucesso em adultos, atingindo taxas de erradicação entre 80 e 90%. Os esquemas mais eficazes consistem de um IBP e dois antimicrobianos. É recomendável que pelo menos um dos antimicrobianos tenha ação sistêmica, ou seja, depois de absorvido seja excretado na mucosa gástrica em forma ativa. São raros os compostos com essa qualidade, que incluem os macrolídeos e derivados imidazólicos (tinidazol ou metronidazol). No Brasil, taxas de erradicação elevadas foram obtidas com o uso de IBP, claritromicina e furazolidona^{109,110}. Outros antimicrobianos compreendem amoxicilina, metronidazol, tetraciclina, bismuto e quinolonas, sendo que estes mais frequentemente integram esquemas de segunda linha. Entretanto, há poucos estudos na literatura relativos ao tratamento da infecção em crianças. Além de os estudos avaliarem um pequeno número de pacientes, há uma grande variação nos

trabalhos quanto à composição, posologia e tempo de tratamento, o que dificulta a definição do melhor esquema terapêutico para a erradicação da bactéria em crianças¹¹¹.

Tindberg et al.¹¹², na Suécia, demonstraram taxas de erradicação inferiores a 67,0% com esquemas terapêuticos contendo azitromicina, tinidazol e lansoprazol. Resultados mais satisfatórios foram obtidos por Kato et al.¹¹³, no Japão, com esquemas compostos por IBP, amoxicilina e claritromicina ou metronidazol, que erradicaram a bactéria em 77,4 e 87,5% das crianças, respectivamente. De acordo com Oderda et al.¹¹¹, esquemas triplices compostos por bismuto, metronidazol e claritromicina ou IBP, amoxicilina e tinidazol ou, ainda, por IBP, metronidazol e claritromicina, usados por 1 a 2 semanas, apresentam taxas de erradicação acima de 85,0% no tratamento de crianças na Itália. Recentemente, Francavilla et al.¹¹⁴, na Itália, observaram taxas de erradicação de 97,5% empregando esquema terapêutico seqüencial composto por omeprazol e amoxicilina por 5 dias, seguidos de omeprazol, claritromicina e tinidazol por mais 5 dias. No Brasil, taxa de erradicação acima de 85% foi observada em crianças tratadas com furazolidona, amoxicilina e metronidazol, administrados em três doses diárias durante 7 dias^{43,115}. Diferentemente do relatado para adultos de países desenvolvidos, esquemas terapêuticos compostos por IBP claritromicina e amoxicilina não se mostraram eficazes no tratamento de crianças no Brasil¹¹⁶. Esquemas alternativos, contendo outros antimicrobianos, devem ser adotados com cautela. Quinolonas são contra-indicadas para uso pediátrico, e tetraciclina não podem ser usadas em crianças com menos de 8 anos de idade.

Resistência, especialmente à claritromicina e ao metronidazol, tem sido descrita, com taxas que variam de acordo com a região. Em nosso meio, foram observadas taxas de resistência de 29,0% à claritromicina e de 45,5% ao metronidazol¹¹⁷. Os métodos microbiológicos indicados para avaliar resistência incluem o *E-test* e diluição em ágar. Mutações que conferem resistência à claritromicina (transição de adenina?guanina na posição 2142 ou 2143, e de adenina?citosina na posição 2142) no gene que codifica o RNA 23S podem ser pesquisadas diretamente no DNA de bactérias isoladas ou no DNA extraído de fragmento de tecido recentemente colhido, podendo ainda ser mantido congelado por PCR seguida de corte com enzima de restrição (PCR-RFLP)¹¹⁸, PCR em tempo real¹¹⁹, LiPA¹²⁰ ou FISH¹²¹⁻¹²³.

Úlcera péptica *H. pylori* negativa

Os antagonistas dos receptores H₂ são drogas seguras e eficazes na cicatrização da UP. Inibem a secreção ácida competindo com receptores H₂ das células parietais e reduzem a secreção de pepsinogênio. Cimetidina, via oral, na dose de 20 a 30 mg/kg/dia em duas tomadas e ranitidina, via oral, 5 a 10 mg/kg/dia, também em duas tomadas, cicatrizam a lesão em 80 a 90 e 80 a 100% dos casos, respectivamente, com 8 semanas de tratamento^{17,124}.

Os IBP são os mais potentes bloqueadores de secreção ácida disponíveis até o momento, sendo o omeprazol a

droga com a qual os pediatras têm mais experiência. Os IBP cuja ação é dose-dependente bloqueiam especificamente a enzima $H^+-K^+-ATPase$ da membrana apical da célula parietal, com conseqüente supressão da secreção ácida. Para crianças menores, incapazes de fazer uso da cápsula intacta, os grânulos devem ser removidos e ingeridos em meio ácido, evitando a dissolução de suas películas protetoras no trânsito através do esôfago. Formulação do omeprazol solúvel em água e suco de frutas já se encontra disponível no mercado, facilitando o uso na infância³⁰. A droga deve ser administrada pela manhã, 30 minutos antes do desjejum¹²⁵. A dose varia de 0,7 a 3,3 mg/kg/dia, não estando, entretanto, ainda bem definida para pacientes pediátricos¹²⁶. A cicatrização completa das lesões, com tratamento por 6 semanas, é atingida em até 100% dos casos. A resposta individual ao omeprazol administrado por via endovenosa é muito variável, e a elevação persistente do pH, acima de quatro, só é observada em poucos pacientes¹²⁵.

Os antiácidos podem oferecer algum benefício no tratamento da UP, mas são necessárias doses elevadas para neutralizar a acidez gástrica, dificultando sua administração, especialmente em crianças pequenas¹⁶. O sulcralfato não apresenta efeito na secreção ácida do estômago; entretanto, pode contribuir para a cicatrização das úlceras por aumento do fluxo sanguíneo na mucosa, bem como da secreção de bicarbonato e muco gástrico¹⁶.

Úlcera péptica *H. pylori* negativa em sangramento

Úlceras profundas na pequena curvatura do estômago ou na parede pósterio-inferior do bulbo duodenal apresentam risco aumentado de sangramento grave devido à proximidade de grandes vasos. Os estigmas endoscópicos de sangramento, descritos por Forrest et al., além de fornecerem orientações para o tratamento endoscópico, são indicadores úteis para o prognóstico do sangramento. O tratamento endoscópico de pacientes com UP em atividade está indicado em situações especiais, como nas UP com sangramento ativo, em jato, (Forrest Ia) ou em lençol (Forrest Ib) e naquelas com presença de vaso visível (Forrest IIa). O método de hemostasia endoscópica mais seguro e comumente usado para a população pediátrica em nosso meio é a injeção local de solução de adrenalina 1:10.000¹²⁷. Outros métodos incluem a termocoagulação com a terapia com laser de argônio ou Nd:Yag e o método mecânico com colocação de cliques metálicos¹²⁷. O tratamento cirúrgico de pacientes com UP hemorrágica está indicado nos casos de sangramentos incontroláveis, com repercussão hemodinâmica grave e ausência de resposta ao tratamento clínico e endoscópico¹²⁸.

Referências

- Baron JH, Sonnenberg A. Publications on peptic ulcer in Britain, France, Germany and the US. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2002;14:711-5.
- Susser M, Stein Z. Civilization and peptic ulcer. *Lancet*. 1962;1:115-9.
- Dooley CP, Larson AW, Stace NH. Double-contrast barium meal and upper gastrointestinal endoscopy. A comparative study. *Ann Intern Med*. 1984;101:538-45.
- Schindler R. *Lehrbuch und Atlas der Gastroskopie*. Munchen: Lehmann; 1923.
- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983;1:1273-5.
- Blaser MJ. Intrastrain differences in *Helicobacter pylori*: a key question in mucosal damage? *Ann Med*. 1995;27:559-63.
- Graham DY. *Campylobacter pylori* and peptic ulcer disease. *Gastroenterology*. 1989;96(2 Pt 2 Suppl):615-25.
- Blecker U. *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease in childhood. *J La State Med Soc*. 1998;150:419-29.
- Queiroz DM, Rocha GA, Mendes EN, Carvalho AS, Barbosa AJA, Oliveira CA, et al. Differences in distribution and severity of *Helicobacter pylori* gastritis in children and adults with duodenal ulcer disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1991;12:178-81.
- International Agency for Research Cancer, Shistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon: IARC; 1994.
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelstein JH, Orentreich, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med*. 1991;325:1127-31.
- Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med*. 1991;325:1132-6.
- Fujioka T, Honda S, Tokieda M. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma in animal models. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000;15 Suppl:D55-9.
- Castro LP, Coelho LGV. *Gastroenterologia*. 2ª ed. São Paulo: Medsi; 2004.
- Drumm B, Rhoads JM, Stringer DA, Sherman PM, Ellis LE, Durie PR. Peptic ulcer disease in children: etiology, clinical findings and clinical course. *Pediatrics*. 1988;82:410-4.
- Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Walker-Smith JA, Watkins JB. *Pediatric gastrointestinal disease*. 2nd ed. St Louis: Mosby; 1996.
- Carvalho AS. Úlcera péptica. *J Pediatr (Rio J)*. 2000;76 Suppl 2:S127-34.
- Kawakami E, Machado RS, Fonseca JA, Patrício FR. Aspectos clínicos e histológicos da úlcera duodenal em crianças e adolescentes. *J Pediatr (Rio J)*. 2004;80:321-5.
- Anand BS, Graham DY. Ulcer and gastritis. *Endoscopy*. 1999;31:215-25.
- Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev*. 2000;22:283-97.
- Goodman KJ, Correa P, Tengana Aux HJ, Ramirez H, DeLany JP, Guerrero Pepinosa OG, et al. *Helicobacter pylori* infection in Colombian Andes: a population-based transmission pathways. *Am J Epidemiol*. 1996;144:290-9.
- Lee A, Fox JG, Otto G, Dick EH, Krakowka S. Transmission of *Helicobacter* spp. A challenge to the dogma of faecal-oral spread. *Epidemiol Infect*. 1991;107:99-109.
- Malaty HM, Kumagai T, Tanaka E, Ota H, Kiyosawa K, Graham DY, et al. Evidence from a nine-year birth cohort study in Japan of transmission pathways of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol*. 2000;38:1971-3.
- Rocha GA, Rocha AMC, Silva LD, Santos A, Bocewicz C, Queiroz RM, et al. Transmission of *Helicobacter pylori* infection in families of preschool-aged children from Minas Gerais, Brazil. *Trop Med Int Health*. 2003;8:987-91.
- Rodrigues MN, Queiroz DM, Bezerra Filho JG, Pontes LK, Rodrigues RT, Braga LL. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children from an urban community in north-east Brazil and risk factors for infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004;16:201-5.
- Goodman KJ, Correa P. Transmission of *Helicobacter pylori* among siblings. *Lancet*. 2000;355:358-62.
- Oliveira AM, Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, Carvalho AS, Ferrari TCA, et al. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children from different age groups with and without duodenal ulcer. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999;28:157-61.
- Cunha RP, Alves FP, Rocha AM, Rocha GA, Camargo LM, Nogueira POP, et al. Prevalence and risk factors associated with *Helicobacter pylori* infection in native population from Brazilian Western Amazon. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*. 2003;97:382-6.
- Everhart JE. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am*. 2000;29:559-78.
- Carvalho SD, Penna SJ. Úlcera Péptica Gastroduodenal. In: Silva RL, editor. *Urgências Clínicas e Cirúrgicas em gastroenterologia e hepatologia pediátricas*. Rio de Janeiro: Medsi; 2004. p. 219-32.
- Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T, Konturek JW, Pawlik WW. From nerves and hormones to bacteria in the stomach; Nobel prize for achievements in gastrology during last century. *J Physiol Pharmacol*. 2005;56:507-30.
- Teorell T. On the permeability of the stomach mucosa for acid and some other substances. *J Gen Physiol*. 1940;94:308-14.
- Code CF, Scholer JF. Barrier offered by gastric mucosa to absorption of sodium. *Am J Physiol*. 1955;183:604-8.
- Davenport HW. *A history of gastric secretion and digestion*. Oxford: Oxford University Press; 1992.

35. Brzozowski T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment - Polish achievements. *J Physiol Pharmacol.* 2003;54 Suppl 3:99-126.
36. Bukhave K, Rask-Madsen J, Hogan DL, Koss MA, Isenberg JI. Proximal duodenal prostaglandin E2 release and mucosal bicarbonate secretion are altered in patients with duodenal ulcer. *Gastroenterology.* 1990;99:951-5.
37. Konturek SJ, Mrzowowski T, Drozdowicz D, Pawlik W, Sendur R. Gastroprotective and ulcer healing effects of solon, a synthetic flavonoid derivative of sophoradin. *Hepatogastroenterology.* 1987;34:164-70.
38. Isenberg JI, Hogan DL, Koss MA, Selling JA. Human duodenal mucosal bicarbonate secretion. Evidence for basal secretion and stimulation by hydrochloric acid and a synthetic prostaglandin E1 analogue. *Gastroenterology.* 1986;91:370-8.
39. Crabtree JE, Covacci A, Farmery SM, Xiang Z, Tompkins DS, Perry S, et al. Helicobacter pylori induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with cagA-positive phenotype. *J Clin Pathol.* 1995;48:41-5.
40. Censini S, Lnage C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. cag, a pathogenicity island of Helicobacter pylori, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:14648-53.
41. McColl KE, Fullarton GM, Chittajalu R, el Nujumi AM, MacDonald AM, Dahill SW, et al. Plasma gastrin, daytime intragastric pH, and nocturnal acid output before and at 1 and 7 months after eradication of Helicobacter pylori in duodenal ulcer subjects. *Scand J Gastroenterol.* 1991;26:339-46.
42. Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Moura SB, Resende LM, Barbosa AJ, et al. Effect of Helicobacter pylori eradication on antral gastrin- and somatostatin-immunoreactive cell density and gastrin-somatostatin concentrations. *Scand J Gastroenterol.* 1993;28:658-64.
43. Queiroz DMM, Moura SB, Mendes EN, Rocha GA, Barbosa AJA, Carvalho AS. Effect of Helicobacter pylori eradication on G-cell and D-cell density in children. *Lancet.* 1994;343:1191-93.
44. Selbach M, Moese S, Hurwitz R, Hauck CR, Meyer TF, Backert S. The Helicobacter pylori CagA protein induces cortactin dephosphorylation and actin rearrangement by c-Src inactivation. *EMBO J.* 2003;22:515-528.
45. Queiroz DM, Mendes EN, Carvalho AS, Rocha GA, Oliveira AMR, Soares AST, et al. Factors associated with Helicobacter pylori by a cagA-positive strain in children. *J Infect Dis.* 2000;181:626-30.
46. Oderda G, Figura N, Bayeli PF. Serologic IgG recognition of Helicobacter pylori cytotoxin associated protein, peptic ulcer and gastroduodenal pathology in childhood. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1995;5:605-9.
47. Oliveira AG, Santos A, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AM, Oliveira CA, et al. babA2 and cagA-positive Helicobacter pylori strains are associated with duodenal ulcer and gastric carcinoma in Brazil. *J Clin Microbiol.* 2003;41:3964-6.
48. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, et al. Infection with Helicobacter pylori strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res.* 1995;55:2111-5.
49. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelstein H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative Helicobacter pylori infection. *Gut.* 1997;40:297-301.
50. Queiroz DMM, Mendes EN, Rocha GA, Oliveira AMC, Oliveira CA, Magalhães PP, et al. cagA-positive Helicobacter pylori and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. *Int J Cancer.* 1998;78:135-9.
51. Cover TL, Blanke SR. Helicobacter pylori VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3:320-2.
52. Montecucco C, de Bernard M. Immunosuppressive and proinflammatory activities of the VacA toxin of Helicobacter pylori. *J Exp Med.* 2003;198:1767-71.
53. Atherton JC, Cao P, Peek RM, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of Helicobacter pylori. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem.* 1995;270:17771-7.
54. Ashour AA, Magalhães PP, Mendes EN, Collares GB, Gusmão VR, Queiroz DM, et al. Distribution of vacA genotypes in Helicobacter pylori strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2002;33:173-8.
55. Gusmão VR, Mendes EN, Queiroz DM, Rocha GA, Rocha AM, Ashour AA, et al. vacA genotypes in Helicobacter pylori strains isolated from children with and without duodenal ulcer in Brazil. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2853-7.
56. Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, Frick IM, Kersulyte D, Inceci ET, et al. Helicobacter pylori adhesin binding fucosylated histo-blood antigens revealed by retagging. *Science.* 1998;279:373-7.
57. Rad R, Gerhard M, Lang R, Schoniger M, Rosch T, Schepp W, et al. The Helicobacter pylori blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *J Immunol.* 2002;168:3033-41.
58. Olfat FO, Zheng Q, Oleastro M, Voland P, Boren T, Karttunen R, et al. Correlation of the Helicobacter pylori adherence factor BabA with duodenal ulcer disease in four European countries. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2005;44:151-6.
59. Silva JP, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AMC, Bittencourt P, MMDA Cabral, et al. babA2 as a risk factor for duodenal ulcer. *Helicobacter.* 2004;9:549.
60. Unemo M, Aspholm-Hurtig M, Ilvert D, Bergström J, Borén T, Danielsson D, Borén T, et al. The sialic binding SabA adhesin of Helicobacter pylori is essential for nonopsonic activation of human neutrophils. *J Biol Chem.* 2005; 280:15390-7.
61. Figueiredo C, Machado JC, Yamaoka Y. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter.* 2005;10 Suppl1: 14-20.
62. Lu H, Hsu PI, Graham DY, Yamaoka Y. Duodenal ulcer promoting gene of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* 2005;128:833-48.
63. Queiroz DM, Gomes LI, Rocha GA, Soares TF, Rocha AM, Godoi LM. dupA-positive H. pylori strains are highly prevalent in Brazil and are not associated with duodenal ulcer in Brazilian adults and children. *Gastroenterology.* 2006;130:A144.
64. Rotter JJ. Genetic aspects of ulcer disease. *Compr Ther.* 1981;7: 716-25.
65. Santtilä S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand J Immunol.* 1998; 47:195-8.
66. Hwang IR, Kodama T, Kikuchi S, Sakai K, Peterson LE, Graham DY, et al. Effect of interleukin 1 polymorphisms on gastric mucosal interleukin 1beta production in Helicobacter pylori infection. *Gastroenterology.* 2002;123:1793-803.
67. Vilaichone RK, Mahachai V, Tumwasorn S, Wu JY, Graham DY, Yamaoka Y. Gastric mucosal cytokine levels in relation to host interleukin-1 polymorphisms and Helicobacter pylori cagA genotype. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40:530-9.
68. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature.* 2000;404:398-402.
69. Machado JC, Pharoah P, Sousa S, Carvalho R, Oliveira C, Figueiredo C, et al. Interleukin 1B and interleukin 1RN polymorphisms are associated with increased risk of gastric carcinoma. *Gastroenterology.* 2001;121:823-9.
70. Rocha GA, Guerra JB, Rocha AM, Saraiva IE, da Silva DA, de Oliveira CA, et al. IL1RN polymorphic gene and cagA-positive status independently increase the risk of noncardia gastric carcinoma. *Int J Cancer.* 2005;115:678-83.
71. Queiroz DMM, Bittencourt P, Guerra JB, Rocha AMC, Rocha GA, Carvalho AST. IL1RN polymorphism and cagA-positive Helicobacter pylori strains increase the risk of duodenal ulcer in children. *Pediatr Res.* 2005;58:892-6.
72. Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H. V. Interleukin 1beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology.* 2002;123:92-105.
73. Zambon CF, Basso D, Navaglia F, Germano G, Gallo N, Milazzo M, et al. Helicobacter pylori virulence genes and host IL1RN and IL-1beta genes interplay in favouring the development of peptic ulcer and intestinal metaplasia. *Cytokine.* 2002;18:242-51.
74. Guerra JB, Rocha GA, Rocha AM, Castro Mendes CM, Saraiva IE, Oliveira CA, et al. IL-1 gene cluster and TNFA-307 polymorphisms in the risk of perforated duodenal ulcer. *Gut.* 2006;55:132-3.
75. Kenneth SN. Doença da úlcera péptica na população pediátrica. Tradução e adaptação *Pediatr Clin North Am.* 1988;1:121-45.
76. Vandenplas Y, Blecker U. Helicobacter pylori infection in children. *Acta Paediatr.* 1998;87:1105-12.
77. Hargrove CB, Ulshen MH, Shub MD. Upper gastrointestinal endoscopy in infants: diagnostic usefulness and safety. *Pediatrics.* 1984;74: 828-31.
78. Magalhães AF, Cordeiro FT, Quilici FA, Machado G, Amarante HM, Prolla JC, et al. SOBED- Endoscopia Digestiva Diagnóstica e Terapêutica. 4ª ed. São Paulo: Revinter; 2005.
79. Bahu MG, da Silveira TR, Maguilnick J, Ulbrich-Kulczynski J. Endoscopic nodular gastritis an endoscopic indicator of high-grade bacterial colonization and severe gastritis in children with Helicobacter pylori. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003;36: 217-22.
80. Sakita T. Endoscopy in the diagnosis of early cancer. *Clin Gastroenterol.* 1973;2:345-60.
81. Rowland M, Drumm B. Clinical significance of Helicobacter infection in children. *Br Med Bull.* 1998;54:95-103.
82. Rocha GA, Queiroz DMM, Mendes EN, Lage AP, Barbosa AJA. Simple carbolfuchsin staining for showing C. pylori and other spiral bacteria in gastric mucosa. *J Clin Pathol.* 1989;42:1004-5.
83. Resende LM, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Coelho LG, Passos MC, et al. Comparison of the urease test and of direct smear examination in the control of treatment of Helicobacter pylori-induced infection. *Braz J Med Biol Res.* 1993;26:699-702.
84. Westblom TU, Madan E, Gudipati S, Midkiff BR, Czinn SJ. Diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult and pediatric patients by using Pyloriset, a rapid latex agglutination test. *J Clin Microbiol.* 1992;30:96-8.

85. Yanez P, la Garza AM, Perez-Perez G, Cabrera L, Munoz O, Torres J. Comparison of invasive and noninvasive methods for the diagnosis and evaluation of eradication of *Helicobacter pylori* infection in children. *Arch Med Res.* 2000;31:415-21.
86. Ogata SK, Kawakami E, Patricio FR, Pedroso MZ, Santos AM. Evaluation of invasive and non-invasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic children and adolescents. *Sao Paulo Med J.* 2001;119:67-71.
87. Melo FF, Rocha AMC, Rocha GA, Bittencourt P, Soares TF, Almeida LR, et al. Avaliação da cultura para o diagnóstico da Infecção por *Helicobacter pylori* em crianças. In: Anais do XXIII Congresso de Microbiologia; 2005 23-25 nov; Santos (SP), Brasil. p. 1470-1.
88. Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moayyedi P, Dixon MF. Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. *J Clin Pathol.* 2000;53:756-9.
89. Vinette KM, Gibney KM, Proujansky R, Fawcett PT. Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. *BMC Microbiol.* 2002;40:3720-8.
90. Russmann H, Kempf VA, Koletzko S, Heesemann J, Autenrieth IB. Comparison of fluorescent in situ hybridization and conventional culturing for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol.* 2001;39:304-8.
91. Loeb M, Jayaratne P, Jones N, Sihoe A, Sherman P. Lack of correlation between vacuolating cytotoxin activity, *cagA* gene in *Helicobacter pylori*, and peptic ulcer disease in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17:653-6.
92. Gzyl A, Berg DE, Dzierzanowska D. Epidemiology of *cagA/vacA* genes in *H. pylori* isolated from children and adults in Poland. *J Physiol Pharmacol.* 1997;48:333-43.
93. van Doorn LJ, Figueiredo C, Rossau R, Jannes G, van Asbroek M, Sousa JC, et al. Typing of *Helicobacter pylori vacA* gene and detection of *cagA* gene by PCR and reverse hybridization. *J Clin Microbiol.* 1998;36:1271-6.
94. Boonjakuakul JK, Sivanen M, Suryaprasad A, Bowliu CL, Solnick JV. Transcription profile of *Helicobacter pylori* in the human stomach reflects its physiology in vivo. *J Infect Dis.* 2004;190:946-56.
95. Yamaoka Y, Kwon DH, Graham DY. A M(r)34,000 proinflammatory outer membrane protein (*oipA*) of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:7533-8.
96. Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for detection of *Helicobacter pylori* infection by the ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol.* 1993;88:1865-9.
97. Kalach N, Briet F, Raymond J, Benhamou PH, Barbet P, Bergeret M, et al. The ¹³carbon urea breath test for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* in children: comparison with culture and determination of minimum analysis requirements. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1998;26:291-6.
98. Bazzoli F, Cecchini L, Corvaglia L, Dall'Antonia M, De Giacomo C, Fossi S, et al. Validation of the ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: a multicenter study. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:646-50.
99. Kindermann A, Demmelmair H, Koletzko B, Krauss-Etschmann S, Wiebecke B, Koletzko S. Influence of age on ¹³C-urea breath test results in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;30:85-91. Erratum in: *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;30:354.
100. Imrie C, Rowland M, Bourke B, Drumm B. Limitations to carbon ¹³-labeled urea breath testing for *Helicobacter pylori* in infants. *J Pediatr.* 2001;139:622-3.
101. Machado RS, Patricio FR, Kawakami E. ¹³C-urea breath test to diagnose *Helicobacter pylori* infection in children aged up to 6 years. *Helicobacter.* 2004;9:39-45.
102. Cardinali LC, Rocha GA, Rocha AM, Moura SB, Soares TF, Esteves AM, et al. Evaluation of [¹³C]urea breath test and *Helicobacter pylori* stool antigen test for diagnosis of *H. pylori* infection in children from developing country. *J Clin Microbiol.* 2003;41:3334-5.
103. Oderda G, Rapa A, Ronchi B, Lerro P, Pastore M, Staiano A, et al. Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by non-invasive antigen enzyme immunoassay in children: multicenter Italian study. *BMJ.* 2000;320:347-8.
104. Kato S, Ozawa K, Okuda M, Nakayama Y, Yoshimura N, Konno M, et al. Japan Pediatric *Helicobacter* Study Group. Multicenter comparison of rapid lateral flow stool antigen immunoassay and stool antigen enzyme immunoassay for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter.* 2004;9: 669-73.
105. Antos D, Crone J, Konstantopoulos N, Koletzko S. Evaluation of a novel rapid one-step immunochromatographic assay for detection of monoclonal *Helicobacter pylori* antigen in stool samples from children. *J Clin Microbiol.* 2005;43:2598-601.
106. Megraud F; European Paediatric Task Force on *Helicobacter pylori*. Comparison of non-invasive tests to detect *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents: results of a multicenter European study. *J Pediatr* 2005;146:164-7.
107. Gilger MA, Tolia V, Johnson A, Rabinowitz S, Jibaly R, Elitsur Y, et al. The use of an oral fluid immunoglobulin G ELISA for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter.* 2002;7: 105-10.
108. Rocha GA, Oliveira AM, Queiroz DM, Carvalho AS, Nogueira AM. Immunoblot analysis of humoral immune response to *Helicobacter pylori* in children with and without duodenal ulcer. *J Clin Microbiol.* 2000;38:1777-81.
109. Dani R, Queiroz DM, DIAS MG, Franco JM, Magalhães LC, Moreira LS, et al. Omeprazole, clarithromycin and furazolidone for the eradication of *Helicobacter pylori* in patients with duodenal ulcer. *Aliment Pharmacol Ther.* 1999;13:1647-52.
110. Queiroz DM, Dani R, Silva LD, Santos A, Moreira LS, Rocha GA, et al. Factors associated with treatment failure of *Helicobacter pylori* infection in a developing country. *J Clin Gastroenterol.* 2002;35:315-20.
111. Oderda G, Rapa A, Bona G. A systematic review of *Helicobacter pylori* eradication treatment schedules in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14 Suppl 3:59-66.
112. Tindberg Y, Casswall TH, Blennow M, Bengtsson C, Granström M, Sörberg M. *Helicobacter pylori* eradication in children and adolescents by a once daily 6-day treatment with or without a proton pump inhibitor in a double-blind randomized trial. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;20:295-302.
113. Kato S, Konno M, Maisawa S, Tajiri H, Yoshimura N, Shimizu T, et al. Results of triple eradication therapy in Japanese children: a retrospective multicenter study. *J Gastroenterol.* 2004;39: 838-43.
114. Francavilla R, Lionetti E, Castellana SP, Magista AM, Boscarelli G, Piscitelli D, et al. Improved efficacy of 10-Day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in children: a randomized trial. *Gastroenterology.* 2005;129:1414-9.
115. Carvalho AS, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Nogueira AM, Cabral MM, et al. Triple antimicrobial therapy plus H₂ receptor antagonist or omeprazole in the eradication of *Helicobacter pylori* in children with duodenal ulcer. *Gut.* 1998;43 Suppl 1:A74.
116. Kawakami E, Ogata SK, Portorreal ACM, Magni AM, Pardo MLE, Patricio FR. Triple therapy with clarithromycin, amoxicillin and omeprazole for *Helicobacter pylori* eradication in children and adolescents. *Arq Gastroenterol.* 2001;38:203-6.
117. Cardinali LCC. Infecção por *Helicobacter pylori* em crianças sintomáticas de Belo Horizonte: validação de dois testes não-invasivos e determinação do padrão de susceptibilidade a antimicrobianos [dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2002.
118. Versalovic J, Shorridge D, Kibler K, Griffy MV, Beyer J, Falmm RK, et al. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:477-80.
119. Chisholm SA, Owen RJ, Teare EL, Saverymuttu S. PCR-based diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and real-time determination of clarithromycin resistance directly from human gastric biopsy samples. *J Clin Microbiol.* 2001;39:1217-20.
120. van der Ende A, van Doorn LJ, Rooijackers S, Feller M, Tytgat GN, Dankert J. Clarithromycin-susceptible and -resistant *Helicobacter pylori* isolates with identical randomly amplified polymorphic DNA-PCR genotypes cultured from single gastric biopsy specimens prior to antibiotic therapy. *J Clin Microbiol.* 2001;39:2648-51.
121. Trebesius K, Panthel K, Strobel S, Vogt K, Faller G, Kirchner T, et al. Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* macrolide resistance in gastric tissue by fluorescent in situ hybridisation. *Gut.* 2000;46:608-14.
122. Juttner S, Vieth M, Miehke S, Schneider-Brachert W, Kirsch C, Pfeuffer T, et al. Reliable detection of macrolide-resistant *Helicobacter pylori* via fluorescence in situ hybridization in formalin-fixed tissue. *Mod Pathol.* 2004;17:684-9.
123. Russmann H, Feydt-Schmidt A, Adler K, Aust D, Fisher A, Koletzko S. Detection of *Helicobacter pylori* in paraffin-embedded and in shock-frozen gastric biopsy samples by fluorescent in situ hybridization. *J Clin Microbiol.* 2003;41:813-5.
124. Feldman M, Burton ME. Histamine₂-receptor antagonists: standard therapy for acid-peptic diseases. 1. *N Engl J Med.* 1990;323:1672-80.
125. Israel DM, Hassall E. Omeprazole and other proton pump inhibitors: pharmacology, efficacy, and safety, with special reference to use in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1998;27:568-79.
126. Hassall E, Israel D, Shepherd R, et al. Omeprazole for treatment of chronic erosive esophagitis in children: a multicenter study of efficacy, safety, tolerability and dose requirements. International Pediatric Omeprazole Study Group. *J Pediatr.* 2000;137:800-7.
127. Silva MG, Milwad G. Endoscopia pediátrica. Rio de Janeiro: Medsi/Guanabara Koogan; 2004.
128. Carvalho E, Nita MH, Paiva LM, Silva AA. Hemorragia digestiva. *J Pediatr (Rio J).* 2000;76 Suppl 2:S135-46.

Correspondência:

Dulciene M. M. Queiroz

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia, Fac. de Medicina, UFMG

Av. Alfredo Balena, 190/40

CEP 30130-100 – Belo Horizonte, MG

Tel./Fax: (31) 3274.2767

E-mail: dqueiroz@medicina.ufmg.br

TRABALHO 2

ARTIGO PROSPECTIVO

ILIRN Polymorphism and *cagA*-Positive *Helicobacter pylori* Strains Increase the Risk of Duodenal Ulcer in Children

DULCIENE MARIA MAGALHÃES QUEIROZ, PAULO BITTENCOURT,
JULIANA BECATTINI GUERRA, ANDREIA MARIA CAMARGOS ROCHA,
GIFONE AGUIAR ROCHA, AND ANFRISINA SALES TELES CARVALHO

Laboratory of Research in Bacteriology, Faculdade de Medicina (D.M.M.Q., J.B.G., A.M.C.R., G.A.R., A.S.T.C.), and Hospital das Clínicas [P.B.], UFMG, Belo Horizonte 30130-100, Brazil.

ABSTRACT

Duodenal ulcers in children are associated with *Helicobacter pylori* gastric infection with *cagA*-positive strains, but factors linked to the host are poorly known. The authors evaluated the role of proinflammatory interleukin-1 gene cluster polymorphisms in the pathogenesis of duodenal ulcer. They studied prospectively 437 children 1 to years old, 209 of whom were *H. pylori* positive and 228 of whom were *H. pylori* negative. *IL1B*-511-C/T, -31T/C, and *ILIRN* Variable number of tandem repeats were genotyped by polymerase chain reaction (PCR) restriction fragment length polymorphism, PCR with confronting two-pair primers, and PCR, respectively. *cagA* status was evaluated by PCR. The role of the proinflammatory cytokine genotypes in the genesis of duodenal ulcer was evaluated before and after stratification of *H. pylori* status on logistic regression models. In the group of children without duodenal ulcer, no association was observed between *H. pylori* status and proinflammatory polymorphisms. Furthermore, no association between *IL1* cluster genotypes and *cagA* status was seen in the *H. pylori*-positive children. However, increasing age, male sex, and *ILIRN**2 were independently associated with duodenal ulcer.

After stratification, in the *H. pylori*-positive children, increasing age, male sex, the presence of *ILIRN**2 allele, and *cagA*-positive status were independently associated with duodenal ulcer. The risk for the development of duodenal ulcer increased when a combined association of the presence of *ILIRN**2 allele and infection by a *cagA*-positive *H. pylori* strain was the variable. This study provides evidence supporting independent roles of *ILIRN**2 allele and *cagA*-positive status in the genesis of duodenal ulcer in children. (*Pediatr Res* 58: 892–896, 2005)

Abbreviations

cagA, cytotoxin-associated gene
CI, confidence interval
DU, duodenal ulcer
IL, interleukin
ILIRN, interleukin-1 receptor antagonist gene
OR, odds ratio
PAI, pathogenicity island
PCR, polymerase chain reaction
VacA, vacuolating cytotoxin

Helicobacter pylori infection is predominantly acquired in childhood and usually persists for life unless treated. In most persons, the natural history of infection is without complications, but peptic ulcer disease, distal gastric carcinoma, or mucosa-associated lymphoid tissue gastric lymphoma will occur in a small percentage of infected individuals (1–3).

In children, DU, a severe complication of the infection is much less common than in adults. The pathobiology of the uncommon childhood-onset DU is uncharacterized, but this adverse outcome may be linked to a more marked gastric

inflammatory response seen in children with DU than in infected children without DU (4–6). Contributing factors include host genetics and bacterial virulence markers. In fact, the *cagA*-PAI and VacA, two of the major bacterial virulence factors involved in host cell modulation, are associated with the disease in childhood (6–8). Several genes of the *cag*-PAI code proteins with similarities to components of type IV secretion systems induce an increased inflammation in the gastric mucosa through release of cytokines such as IL-8 and IL-1 β (9,10). In addition to the VacA properties linked to the gastric mucosa damage, the toxin may increase the inflammatory response of the gastric mucosa by different pathways, such as a recently demonstrated action in increasing the expression of the proinflammatory enzyme cyclooxygenase-2, not only in T cells but also in neutrophils and macrophages (11).

Received November 10, 2004; accepted March 1, 2005.

Correspondence: Dulciene Maria Magalhães Queiroz, M.D., Laboratory of Research in Bacteriology, Faculdade de Medicina, UFMG, Av. Alfredo Balena, 190, S/4026, 30130-100, Belo Horizonte, Brazil; e-mail: dqueiroz@medicina.ufmg.br

Supported by CNPq and FAPEMIG, Brazil

DOI: 10.1203/01.PDR.0000181380.14230.8B

Although infection with virulent *H. pylori* strains may contribute to the difference in the inflammatory response observed in children with DU, it also may depend on the genetic background of the host.

Among the genetic factors, polymorphisms in gene promoter regions encoding for cytokines are attractive candidates as host-related risk factors. They may affect cytokine transcription and then the host immune response. Indeed, *IL1B* (-31C, -511T) and *IL1RN**2 alleles were recently associated with an increased risk for severe gastric lesions, such as atrophy and intestinal metaplasia, and the development of gastric carcinoma (12–16). Individuals harboring these genotypes are thought to overexpress gastric IL-1 β in response to *H. pylori* infection that amplifies the inflammation and increases the gastric lesion.

Our hypothesis is that *IL1* polymorphisms in children may contribute to a more marked gastritis (both antral and oxyntic) than is seen in those with DU, without, however, leading to atrophic changes that need a more prolonged period of infection to be established (4–6).

Therefore, our aim was to investigate whether *IL1* gene cluster polymorphisms are associated with DU in children, controlling for confounding factors. Because VacA high producer *H. pylori* strains are also *cagA*-positive and VacA/*cagA*-positive strain is associated with DU in children in certain populations, *cagA* was included in the logistic model as the virulence *H. pylori* marker (6).

METHODS

This study was approved by the Ethics Committee of the Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil. Informed consent to participate was obtained from children (whenever possible) and their parents.

We studied 437 children (241 girls, mean age 9.37 \pm 3.82 years, range 1–18 years) who underwent endoscopy for investigation of upper abdominal pain. Seventy-two (16.5%) *H. pylori*-positive children had DU. Among them, 52 were included in other studies (6,7).

All the included patients were from the same socioeconomic level with similar cultural habits, and all were natives of Minas Gerais state with the same ethnic background: approximately 33% of Portuguese ancestry, 33% of Amerindian ancestry, and 33% of African ancestry (17).

The patients were considered to be *H. pylori* positive if the culture was positive or if they were positive by two of the following tests: the performed urease test, carbolfuchsin stained smear examination, or ¹³C-urea breath test. The children were considered *H. pylori* negative if the results of all tests were negative.

At endoscopy, biopsy specimens were obtained from the antral and oxyntic gastric mucosa of all patients for microbiologic analyses.

Tissue samples for culture were maintained in sodium thioglycolate broth (Difco, Detroit, MI, USA) at 4°C for a maximum of 1 h, ground separately in a tissue homogenizer (Kontes, Vineland, NJ, USA), and plated onto Petri dishes containing freshly Belo Horizonte medium (18). *H. pylori* was identified as previously described (6,9). One antral fragment was placed in a tube containing Christensen's 2% urea agar and examined within 24 h of incubation at 37°C for urea hydrolysis.

One antral biopsy specimen was immediately rubbed on a glass slide and subsequently heat-fixed and stained with 40% carbolfuchsin for the presence of spiral-shaped bacteria.

All *H. pylori* strains, as well as gastric fragments from *H. pylori*-positive patients from whom the microorganism was not isolated, were evaluated for the presence of *cagA* and *ureA*.

The ¹³C-Urea breath test was performed according to our previous study (19).

Tissue and bacterial culture DNA was extracted with the QIAamp DNA mini kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) (20).

Genomic DNA from bacterial and tissue samples were PCR amplified for *cagA* by the use of two sets of synthetic oligonucleotides primers as described

elsewhere by Kelly *et al.* (21) and Peek *et al.* (22). The strains were considered to be *cagA* positive when at least one of the reactions was positive. The presence of *H. pylori* DNA was confirmed by the detection of *ureA* (23).

To analyze gene host polymorphisms, the DNA was extracted from one antral gastric fragment.

The *IL1B*-31 T/C biallelic polymorphism was genotyped by PCR with confronting two-pair primers (24).

The PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) method was used for the *IL1B*-511C/T bi-allelic polymorphism genotyping (25).

IL1RN penta-allelic variable number tandem repeats was genotyped according to Mansfield *et al.* (25). The polymorphism was based on the number of repeats of an 86 bp, and the alleles were coded conventionally as follows: allele 1, 4 repeats (410 bp); allele 2, 2 repeats (210 bp); allele 3, 5 repeats (500 bp); allele 4, 3 repeats (325 bp), and allele 5, 6 repeats (595 bp). For the statistical analysis, and because of the rarity of alleles 3, 4 and 5, this polymorphism was treated as bi-allelic by classifying the alleles in short (allele 2) and long (alleles 1, 3, 4 and 5) categories (13).

Statistical analysis. The data were analyzed with SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) statistical software package version 10.0.

Linkage disequilibrium between the loci was estimated by using the program GENEPOP (available from wbiomed.curtin.edu.au/cgi-bin/genepop.cgi) in the control group without DU.

Associations between *H. pylori* and *cagA* status and gene polymorphisms as well as *cagA* status and DU were evaluated by the two-tailed χ^2 test with Yate's correction or Fisher's exact test. The level of significance was set at $p < 0.05$.

Variables such as sex, mean age, *cagA* status (negative or positive), and the cytokine genotypes (*IL1B*-31T/C, -511C/T, and *IL1RN* VNTR) were evaluated in the risk of DU in a logistic model. For this analysis, the presence of proinflammatory polymorphic alleles was scored as 0 (absence of allele 2), 1 (presence of 1 allele 2) and 2 (presence of 2 alleles 2). The association of each variable with peptic ulcer (dependent variable) was tested in univariate analysis. All the variables with a p value of 0.25 or less were included in the full model of logistic regression. The OR and 95% CI were used as an estimate of the risk. The Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test was used to evaluate the fit of the model (26).

RESULTS

The characteristics of the children are shown in Table 1. Two hundred and twenty-eight children were *H. pylori* negative and 209 were *H. pylori* positive. In the last group, the *cagA* status was positive in 61 (84.7%) children and 75 (54.7%) children with and without DU, respectively ($p < 0.001$, OR = 4.58, 95% CI = 2.11–10.13).

To evaluate whether *H. pylori* status was associated with cytokine polymorphisms, *H. pylori*-positive and -negative children carrying or not carrying polymorphic alleles were compared. No association was observed between the groups ($p = 0.87$, OR = 0.93, 95% CI = 0.55–1.57 for *IL1B*-31 and $p = 0.12$; OR = 0.72, 95% CI = 0.48–1.08 for *IL1RN*). No association between *cagA* status and the presence or absence of polymorphic genes was observed ($p = 0.49$, OR = 0.84, 95% CI = 0.54–1.32 for *IL1B*-31 and $p = 0.80$; OR = 1.10, 95% CI = 0.65–1.88 for *IL1RN*).

When we analyzed the linkage disequilibrium among different loci, only the results of *IL1B*-31 were included in the logistic model because there was a strong association between

Table 1. Characteristics of the children ($n = 437$)

Patients	n	Girls/boys	Age (y)	
			Mean	Range
<i>H. pylori</i> -positive	209	107/102	9.4	1–18
Duodenal ulcer	72	18/54	12.2	4–18
Gastritis	137	89/48	10.0	1–17
<i>H. pylori</i> -negative	228	134/94	8.1	1–17

n, number.

IL1B-511T and *IL1B-31C* in all groups ($p < 10^{-6}$). All the alleles at the other loci were segregated independently (*IL1B-31* and *IL1RN*, $p = 0.46$; *IL1B-511* and *IL1RN*, $p = 0.11$).

When the cytokine genotypes were analyzed as a dichotomous variable, a trend toward higher frequency of *IL1RN2/2* ($p = 0.09$) was seen in patients with DU, but no difference was observed in the frequency of *IL1RN1/2*, *IL1B-31T/C* and *IL1B-31C/C* genotypes between patients with and without DU (Table 2).

Analysis according to haplotype frequencies showed a statistically significant association between *IL1RN* allele 2 and DU ($p = 0.04$), but no other association was seen (Table 2).

When we analyzed the group of *H. pylori*-positive children in dichotomous analysis, a trend toward higher frequency of the *IL1RN2/2* allele ($p = 0.08$) and a statistically significant higher frequency of the *IL1RN1/2* allele ($p = 0.01$) were seen in patients with DU, but no difference was observed in the frequency of *IL1B-31* genotypes between patients with and without the disease (Table 3).

Again, when the cytokine haplotype frequency was analyzed, the *IL1RN* allele 2 was significantly more frequent in children with DU ($p = 0.002$) (Table 3).

After, we treated every cytokine genotype as variable having three values each, according to the amount of inflammatory alleles in logistic models. In the univariate analysis, DU was also associated with increasing age, male sex, *cagA*-positive status, and *IL1RN*2* allele, but not with *IL1B-31* polymorphisms (Table 4). All the included variables remained positively associated with DU in the multivariate analysis (Table 4). The Hosmer-Lemeshow test showed good fit of the model ($\chi^2 = 8.22$, 8 df, $p = 0.42$, with 10 steps).

To assess the combined effect of infection with *cagA*-positive strain and the presence of the *IL1RN*2* allele on the development of DU, we compared the frequencies of these risk factors in children with peptic ulcer disease and in those without the disease. The patients were classified as follows: 0, without the factors; 1, with one of the risk factors; and 2, with

the two risk factors. Individuals carrying the *IL1RN*2* allele or infected by a *cagA*-positive strain had an increased risk for DU with an OR of 5.42 (95% CI = 1.45–23.84), and individuals who had the two high-risk factors had an OR of 19.20 (95% CI = 4.48–95.03).

DISCUSSION

H. pylori infection is mainly acquired in childhood, very early in certain developing countries. Although most infected children remain asymptomatic without complications, DU will develop in a few (6,27,28). Possible explanations for these facts include the characteristics of the colonizing *H. pylori* strains, the genotype of the host, exposure to environmental cofactors, or interactions among two or more of these factors.

Among the putative bacterial factors, *cagA*, which is part of the *cag*-PAI, is now accepted as a risk factor for the development of DU in both adults and children (6,27,29). Products of the genes of the *cag*-PAI are associated with increased production of cytokines such as IL-1 β , tumor necrosis factor- α , and IL-8 that cause more marked gastric inflammation (9). The results of this study demonstrated that infection with *cagA*-positive *H. pylori* strains is independently associated with duodenal peptic ulcer in children, with an OR of 4.1. The *cagA*-positive strains are frequently cytotoxin producers (16). We have previously demonstrated the presence of antibodies to cytotoxin more often in children with DU (90.5%) than in those without DU (44.4%), showing that VacA is expressed *in vivo* in the majority of children with DU (8). In addition to the properties of VacA linked to damage of the gastric mucosa by multiple mechanisms, the toxin emerges as a potent immunomodulatory protein with proinflammatory activities and immunosuppressive effects that would be very useful to promote persistent bacterial mucosal colonization (11).

Together with the virulent bacterial strains, the adverse outcome of *H. pylori* infection also depends strongly on the host response. Because IL-1 β induces the transcription of other proinflammatory cytokines initiating and amplifying the im-

Table 2. *IL1B-31*, *IL1B-511* and *IL1RN* genotypic frequencies in children with ($n = 72$) and without ($n = 365$) duodenal ulcer

Genotype	Control n (%)	Duodenal ulcer n (%)	OR	95% CI	<i>p</i>
<i>IL1B-31</i>					
T/T	117 (32.0)	26 (36.1)	1.0	–	–
C/T	185 (50.7)	33 (45.8)	0.80	0.44–1.46	0.53
C/C	63 (17.3)	13 (18.1)	0.93	0.42–2.04	0.98
Allele T	419 (57.4)	85 (59.0)	1.0	–	–
Allele C	311 (42.6)	59 (41.0)	0.94	0.69–1.37	0.79
<i>IL1B-511</i>					
C/C	126 (34.5)	27 (37.5)	1.0	–	–
C/T	184 (50.4)	33 (45.8)	0.84	0.46–1.52	0.62
T/T	55 (15.1)	12 (16.7)	1.02	0.45–2.28	0.88
Allele C	436 (59.7)	87 (60.4)	1.0	–	–
Allele T	294 (40.3)	57 (39.6)	0.97	0.66–1.92	0.95
<i>IL1RN</i>					
1/1	229 (62.7)	37 (51.4)	1.0	–	–
1/2	111 (30.4)	26 (36.1)	1.45	0.81–2.60	0.23
2/2	25 (6.8)	09 (12.5)	2.23	0.89–5.50	0.09
Allele 1*	569 (77.9)	100 (69.4)	1.0	–	–
Allele 2**	161 (22.1)	44 (30.6)	1.56	1.03–2.35	0.04

n, number; OR, odds-ratio; CI confidence interval; *, all the long alleles; **, the short allele.

Table 3. *IL1B-31, IL1B-511 and IL1RN genotypic frequencies in H. pylori-positive children with (n = 72) and without (n = 137) duodenal ulcer (DU)*

Genotype	Without DU n (%)	With DU n (%)	OR	95% CI	p
<i>IL1B-31</i>					
T/T	42 (30.6)	26 (36.1)	1.0	–	–
C/T	69 (50.4)	33 (45.8)	0.77	0.39–1.54	0.53
C/C	26 (19.0)	13 (18.1)	0.81	0.33–1.99	0.76
Allele T	153 (55.8)	85 (59.0)	1.0	–	–
Allele C	121 (44.2)	59 (41.0)	0.88	0.57–1.35	0.60
<i>IL1B-511</i>					
C/C	47 (34.3)	27 (37.5)	1.0	–	–
C/T	68 (49.6)	33 (45.8)	0.84	0.43–1.66	0.71
T/T	22 (16.1)	12 (16.7)	0.95	0.37–2.40	0.92
Allele C	162 (59.1)	87 (60.4)	0.95	0.61–1.46	0.88
Allele T	112 (40.9)	57 (39.6)	1.0	–	–
<i>IL1RN</i>					
1/1	99 (72.3)	37 (51.4)	1.0	–	–
1/2	29 (21.2)	26 (36.1)	2.40	1.19–4.84	0.01
2/2	09 (6.6)	09 (12.5)	2.68	0.89–8.07	0.08
Allele 1*	227 (82.8)	100 (69.4)	1.0	–	–
Allele 2**	47 (17.2)	44 (30.6)	2.13	1.29–3.51	0.002

n, number; OR, odds-ratio; CI, confidence intervals; *, all the long alleles; **, the short allele.

Table 4. *Variables associated with duodenal ulcer in H. pylori-positive children**

Covariate	Univariate analysis	Multivariate analysis		
	p value	OR	95% CI	p value
Male gender	<0.001	5.17	2.46–10.88	<0.001
Increasing age	<0.001	1.17	1.04–1.31	0.009
<i>ILRN</i> *2 allele	0.01	2.51	1.43–4.41	0.001
<i>CagA</i> + status	<0.001	4.12	1.72–9.87	0.002
<i>IL1B-31</i> *C	0.45	–	–	–

* 72 with and 137 without duodenal ulcer; OR, odds-ratio; CI confidence intervals.

mune response, polymorphisms on the *IL1* cluster that may affect cytokine transcription are natural host risk candidates. The genes encoding for IL-1 cytokines are clustered on chromosomes 2q12–22 and are polymorphic at several loci (30). A bi-allelic polymorphism at positions -31 and -511 of *IL1B* has been described with the allele C and T, respectively, representing IL-1 β high secretory phenotypes (31). Similarly, it has been shown that the polymorphic *ILRN* allele 2 enhances IL-1 β production, although the mechanism of this association is unknown (15,31,32).

In the present study, we demonstrated that *IL1RN* heterozygote and polymorphic homozygote were associated with an increased and independent risk of the development of DU in children, whereas *IL1B* polymorphic genes were not associated with the disease. This result may be explained by the fact that *IL1RN* allele 2 enhances the production of IL-1 β to a much greater extent than do the *IL1B* promoter region polymorphisms, as demonstrated by different authors in mononuclear cell culture and in the gastric mucosa of *H. pylori*-infected patients (15,31,32). Thus, high IL-1 β production may contribute to an increased antral inflammation that may lead to a decreased somatostatin antral concentration and an increased gastrin releasing that may elicit, in a healthy corpus mucosa,

the high gastric acid output necessary to the development of DU (33–35).

The results of this study are different from those in the adult population. Furuta *et al.* (36) observed that carriage of *IL1RN* allele 2 significantly protected Japanese individuals against DU, and Garcia-Gonzales *et al.* (37) and Zamboni *et al.* (38) did not show associations between single *IL-1* polymorphic genes and DU in Caucasian adults. These results allow important conclusions to be made. First, there is a significant difference in the distribution of various cytokine genotypes in different regions and ethnic groups, which may partially explain the discrepancies observed when our results were compared with those from other populations. We have already demonstrated that in our population the distribution of the inflammatory alleles at the *IL1* loci was intermediate between the Asians and Caucasians (39). The second point that deserves emphasis is that differences exist between adults and children with DU.

In the context of *H. pylori* infection, the gastric inflammation seems to be downmodulated in infected children in comparison with adults (40). This may explain, at least in part, why the infection is mainly acquired in childhood. However, more marked inflammation seems to be essential to the development of DU in children, there being necessary additional proinflammatory factors to overcome the natural low inflammatory response to *H. pylori* in children. Thus, an interplay between infection with *H. pylori* virulent strains that elicit a high host inflammation and a host who is able to have a more marked inflammatory response seems to be necessary for development of the disease. In other words, children who harbor *IL1RN* polymorphic genes associated with high IL-1 β production, when they are colonized by *VacA/cagA*-positive virulent strains that are high cytotoxin producers and have inflammatory properties, are under increased risk for the development of DU. In fact, the risk for the development of DU was enhanced substantially (OR = 19.20) when carriers of the allele 2 of

IL1RN were infected with a *cagA*-positive strain, showing that both host genetic constitution and *H. pylori* virulence markers should be taken into account in defining disease risk.

Otherwise, increased risk to DU depends on an imbalance among factors that were not evaluated in this study, such as those associated with high acid output, among them an increased parietal cell mass (35). Thus, factors associated with increased inflammation, as is the case with virulence bacterial markers and host *IL1RN* polymorphisms, in conjunction with host factors associated with the capacity to secrete large amounts of acid that may neutralize the gastric acid inhibitory activity of IL-1 β , may work together, predisposing to the genesis of ulcers.

In conclusion, this study provides evidence supporting an independent role of virulence marker of *H. pylori* strains and *IL1RN* polymorphisms in the genesis of DU in children. The combined association of these factors significantly increases the risk of the disease in this age group. Further studies are necessary to identify additional host and bacterial factors as well as environmental influences on the bacteria-host interactions that predispose to DU in childhood.

REFERENCES

- Mégraud F, Lamouliatte H 1992 *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer: evidence suggesting causation. *Dig Dis Sci* 37:769–772
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelstein JH, Orentreich N, Sibley RK 1992 *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 325:127–131
- Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo O, Falzon MR, Isaacson PG 1991 *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 338:1175–1176
- Drumm B 1993 *Helicobacter pylori* in the pediatric patient. *Gastroenterol Clin North Am* 169:162–182
- Nogueira AM, Cabral MM, Carvalho AS, Oliveira CA, Queiroz DM, Oliveira AM, Rocha GA, Mendes EN, Magalhães PP, Castro AM, Paturle P 2000 Gastrite associada ao *Helicobacter pylori* em adultos e crianças: estudo comparativo. *J Bras Patol* 36:110–117
- Queiroz DM, Mendes EM, Carvalho AS, Rocha GA, Oliveira AM, Soares TF, Santos A, Cabral MM, Nogueira AM 2000 Factors associated with *Helicobacter pylori* infection by a *cagA*-positive strain in children. *J Infect Dis* 181:626–630
- De Gusmão VR, Nogueira Mendes E, De Magalhães Queiroz DM, Aguiar Rocha G, Carmagos Rocha AM, Ramadan Ashour AA, Carvalho AS 2000 *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from children with and without duodenal ulcer in Brazil. *J Clin Microbiol* 38:2853–2857
- Rocha GA, Rocha AM, de Magalhães Queiroz D, Nogueira Mendes E, Nogueira AM, Teles de Carvalho AS 2001 Validation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay to detect anti-*cagA* antibodies in children with *Helicobacter pylori* infection. *J Pediatr Gastroenterol* 33:515–518
- Crabtree JE, Covacci A, Farmery SM, Xiang Z, Tompkins DS, Perry S, Lindley U, Rappuoli R 1995 *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with *CagA* positive phenotype. *J Clin Pathol* 48:41–45
- Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, Rappuoli R, Covacci A 1996 *Cag*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:14648–14653
- Montecucco C, de Bernard M 2003 Immunosuppressive and proinflammatory activities of the *VacA* toxin of *Helicobacter pylori*. *J Exp Med* 198:1767–1771
- El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Breem JH, Young HA, Herrera J, Lissowska J, Yuan CC, Rothman N, Lanyon G, Martin M, Fraumeni JF Jr, Rabkin CS 2000 Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 404:398–402
- Machado JC, Pharoah P, Sousa S, Carvalho R, Oliveira C, Figueiredo C, Amorim A, Seneca R, Caldas C, Carneiro F, Sobrinho-Simões M 2001 Interleukin 1B and interleukin 1RN polymorphisms are associated with increased risk of gastric carcinoma. *Gastroenterology* 121:823–829
- Figueiredo C, Machado JC, Pharoah P, Seneca R, Sousa S, Carvalho R, Capelinha AF, Quint W, Caldas C, van Doorn LJ, Carneiro F, Sobrinho-Simões M 2002 *Helicobacter pylori* and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 94:1680–1687
- Rad R, Dossunbekova A, Neu B, Lang R, Bauer S, Saur D, Gerhard M, Prinz C 2004 Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 53:1082–1090
- El-Omar EM, Rabkin CS, Gammon MD, Vaughan TL, Risch HA, Schoenberg JB, Stanford JL, Mayne ST, Goedert J, Blot WJ, Fraumeni JF Jr, Chow WH 2003 Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology* 124:1193–1201
- Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD 2003 Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:177–182
- Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA 1987 Indicator medium for isolation of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 25:2378–2379
- de Carvalho Costa Cardinali L, Rocha GA, Rocha AM, de Moura SB, de Figueiredo Soares T, Esteves AM, Nogueira AM, Cabral MM, de Carvalho AS, Bittencourt P, Ferreira A, Queiroz DM 2003 Evaluation of [¹³C] urea breath test and *Helicobacter pylori* stool antigen test for diagnosis of *H. pylori* infection in children from a developing country. *J Clin Microbiol* 41:3334–3335
- Monteiro L, Gras N, Vidal R, Cabrita J, Mégraud F 2001 Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human feces by PCR: DNA stability and removal of inhibitors. *J Microbiol Methods* 45:89–94
- Kelly SM, Pitcher MC, Farmery SM, Gibson GR 1994 Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. *Gastroenterology* 107:1671–1674
- Peek RM Jr, Miller GG, Tham K, Pérez-Pérez GI, Cover TL, Atherton JC, Dunn GD, Blaser MJ 1995 Detection of *Helicobacter pylori* gene expression in human gastric mucosa. *J Clin Microbiol* 33:28–32
- Clayton CL, Kleanthous H, Coates PJ, Morgan DD, Tabaqchali S 1992 Sensitive detection of *Helicobacter pylori* by using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30:192–200
- Hamajima N, Matsuo K, Saito T, Tajima K, Okuma K, Yamao K, Tomimaga S 2001 Interleukin 1 polymorphisms, lifestyle factors, and *Helicobacter pylori* infection. *Jpn J Cancer Res* 92:383–389
- Mansfield JC, Holden H, Tarlow JK, Di Giovine FS, McDowell TL, Wilson AG, Holdsworth CD, Duff GW 1994 Novel genetic association between ulcerative colitis and the anti-inflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist. *Gastroenterology* 106:637–642
- Hosmer DW, Lemeshow S 2000 Applied Logistic Regression. JH Wiley Interscience Publication, New York, pp 143–202
- Oderda G, Figura N, Bayeli PF, Bassagni C, Bugnole M, Amellini D, Altare F, Ansaldi N 1993 Serologic IgG recognition of *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated protein, peptic ulcer and gastroduodenal pathology in childhood. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 5:695–699
- Blanchard SS, Bauman L, Czinn SJ 2004 Treatment of *Helicobacter pylori* in pediatrics. *Curr Treat Options Gastroenterol* 7:407–412
- Evans DG, Queiroz DM, Mendes EN, Evans Jr DJ 1998 *Helicobacter pylori* *cagA* status and s and m alleles of *vacA* in isolates from individuals with a variety of *H. pylori*-associated gastric diseases. *J Clin Microbiol* 36:3435–3437
- Dinarello CA 1996 Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87:2095–2147
- Hwang IR, Kodoma T, Kikuchi S, Sakai K, Peterson LE, Graham DY, Yamaoka Y 2002 Effect of interleukin 1 polymorphisms on gastric mucosal interleukin 1 β production in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 123:1793–1803
- Santtilä S, Savinainen K, Hurme M 1998 Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1 β production in vitro. *Scand J Immunol* 47:195–198
- Queiroz DM, Moura SB, Mendes EN, Rocha GA, Barbosa AJ, de Carvalho AS 1994 Effect of *Helicobacter pylori* eradication on G-cell and D-cell density in children. *Lancet* 343:1191–1194
- Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Moura SB, Resende LM, Barbosa AJ, Coelho LG, Passos MC, Castro LP, Oliveira CA, Lima GF Jr 1993 Effect of *Helicobacter pylori* eradication on antral gastrin- and somatostatin-immunoreactive cell density and gastrin and somatostatin concentrations. *Scand J Gastroenterol* 28:858–864
- El-Omar EM 2001 The importance of interleukin 1[β] in *Helicobacter pylori* associated disease. *Gut* 48:743–747
- Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H, Sugimura H 2002 Interleukin 1 β polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology* 123:92–105
- García-González MA, Lunas A, Santolaria, Crusius BA, Serrano MT, Pena AS 2001 The polymorphic IL-1B and IL-1RN gene in the aetiopathogenesis of peptic ulcer. *Clin Exp Immunol* 125:368–375
- Zamboni CF, Basso D, Navaglia G, Germano G, Gallo N, Milazzo M, Greco E, Fogar P, Mazza S, Di Mario F, Basso G, Rugge M, Plebani M 2002 *Helicobacter pylori* virulence genes and host IL-1RN and IL-1 β genes interplay in favouring the development of peptic ulcer and intestinal metaplasia. *Cytokine* 18:242–251
- Queiroz DM, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AM, Santos A, De Oliveira AG, Cabral MM, Nogueira AM, De Oliveira CA 2004 IL1B and IL1RN polymorphic genes and *Helicobacter pylori* *cagA* strains decrease the risk of reflux esophagitis. *Gastroenterology* 127:73–79
- Queiroz DM, Rocha GA, Mendes EN, Carvalho AS, Barbosa AJ, Oliveira CA, Lima GF Jr 1991 Differences in distribution and severity of *Helicobacter pylori* gastritis in children and adults with duodenal ulcer disease. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 12:178–181