

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA**

**GASTRITE ATRÓFICA DO CORPO: ESTUDO DAS ALTERAÇÕES
HISTOPATOLÓGICAS DA MUCOSA GÁSTRICA E RELAÇÃO COM
AUTO-IMUNIDADE E NÍVEIS SÉRICOS DE GASTRINA**

CAROLINNE BAHIA RODRIGUES

Belo Horizonte

2007

CAROLINNE BAHIA RODRIGUES

**GASTRITE ATRÓFICA DO CORPO: ESTUDO DAS ALTERAÇÕES
HISTOPATOLÓGICAS DA MUCOSA GÁSTRICA E RELAÇÃO COM
AUTO-IMUNIDADE E NÍVEIS SÉRICOS DE GASTRINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina
da Universidade Federal de Minas Gerais como
requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

Área de Concentração: Patologia Geral

Orientador: Prof. Alfredo José Afonso Barbosa

Belo Horizonte

2007

R696g

Rodrigues, Carolinne Bahia

Gastrite atrófica do corpo: estudo das alterações histopatológicas da mucosa gástrica e relação com auto- imunidade e níveis séricos de gastrina/Carolinne Bahia Rodrigues. Belo Horizonte, 2007.

109f. il.

Dissertação.(mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais.
Faculdade de Medicina.

Área de concentração: Patologia Geral

Orientador: Alfredo José Afonso Barbosa

1.Gastrite atrófica/patologia 2.Gastrite atrófica/etiologia 3.Doenças auto- imunes/complicações 4.Gastrinas/sangue 5.Hiperplasia/etiologia 6.Células enteroendócrinas/patologia 7.Células parietais gástricas/patologia I.Título

NLM: WI 310

CDU: 616.33-002.27

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR: Prof. Ronaldo Tadeu Pena

Pró-Reitoria de Pós-Graduação

PRÓ-REITOR: Prof. Jaime Arturo Ramírez

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETOR: Prof. Francisco José Penna

Centro de Pós-Graduação

COORDENADOR: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Programa de Pós-Graduação em Patologia Geral

COLEGIADO

Representantes Docentes

Prof^ª Ana Margarida Miguel Ferreira Nogueira

Prof. Anilton César Vasconcelos

Prof. Geovanni Dantas Cassali

Prof^ª Helenice Gobbi

Prof^ª Silvana Elói Santos

Prof. Wagner Luiz Tafuri

Representantes Discentes

Rafael Malagoli Rocha

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA

A Comissão Examinadora, abaixo-assinada, aprova a dissertação intitulada: “Gastrite atrófica do corpo: estudo das alterações histopatológicas da mucosa gástrica e relação com auto-imunidade e níveis séricos de gastrina” apresentada em sessão pública por Carolinne Bahia Rodrigues, aluna do curso de Pós-Graduação em Patologia – Área de Concentração Patologia Geral do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, para obtenção do título de Mestre em Patologia realizada em 14/ 03/ 2007.

Prof. Alfredo José Afonso Barbosa (Orientador) - UFMG

Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho - UFMG

Prof^a Mônica Maria Demas Álvares Cabral - UFMG

Belo Horizonte

2007

À minha família com ternura e ao Prof.
D^r Alfredo José Afonso Barbosa pelos
ensinamentos e incentivos no estudo da
Patologia Digestiva e do Sistema
Neuroendócrino.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

“É importante saber agradecer, agradecer pelo sol que nasce, pelo novo dia que começa... Agradecer pela saúde e pela vida. Agradecer especialmente pela natureza e pelos bons amigos que temos.”

Agradeço a Deus e aos caminhos que me foram concedidos conhecer generosamente.

Agradeço aos meus pais, Eduardo e Suzana, pela presença confiante desde o início e até hoje quando compartilhamos verdadeira amizade. Muito obrigada, queridos pais!

Agradeço a minha irmã, Grazielle, por me auxiliar no exercício da paciência durante os momentos mais difíceis e sobretudo pelo carinho fraterno.

A minha gratidão, admiração e respeito ao Prof. D^r Alfredo José Afonso Barbosa pela oportunidade da orientação e de desenvolver este trabalho no Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina, pelo incentivo a participar do ambiente de pesquisa e de persistir na atualização dos conhecimentos. Obrigada pela paciência, confiança e apoio com que sempre me orientou.

Agradeço à Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais através do seu Diretor, Prof. Francisco José Penna.

Agradeço ao Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais através de seu Coordenador, Prof. Carlos Faria Santos Amaral.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, em especial aos professores do curso de pós-graduação em Patologia através dos Coordenadores, Prof. Geovanni Dantas Cassali e Prof^a Ana Margarida Miguel Ferreira Nogueira e aos docentes do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal.

Agradeço ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais através da Presidente Prof^a D^{ra} Maria Elena de Lima Perez Garcia e à Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais através do Diretor Prof. Juarez Oliveira Castro, pela seriedade, respeito e colaboração com os pesquisadores durante a avaliação dos projetos.

Agradeço especialmente aos membros do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais através dos Profs. D^r Paulo Roberto Savassi Rocha e D^r Luiz Gonzaga Vaz Coelho por disponibilizar o Instituto Alfa de Gastroenterologia e o Ambulatório da Gastroenterologia do Hospital Bias Fortes da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais durante a realização deste projeto. Obrigada aos colegas médicos que receberam os encaminhamentos dos pacientes da pesquisa dando seguimento ao tratamento clínico-ambulatorial. Agradeço a Luciene e Luciana do Laboratório de Patologia pelo auxílio durante a seleção dos laudos, a localização das lâminas e dos blocos no arquivo com todo cuidado necessário.

Agradeço aos funcionários do Hospital Bias Fortes, onde realizei as entrevistas no Ambulatório de Gastroenterologia, pela atenção com que receberam os pacientes.

Agradeço ao Centro de Informática Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais através do Coordenador Prof. Sílvio de Almeida Basques. Obrigada à equipe de monitores, professores e funcionários, pelo apoio, compreensão das principais dificuldades e pelas informações orientadas sobre a utilização correta do Epi- Info durante a criação e análise do banco de dados.

Agradeço à Prof^a Emília Sakurai pela atenção sincera e disponível quando precisei de auxílio para discutir e relembrar os princípios de estatística. Agradeço ao Prof. Eugênio Marcos Andrade Goulart pela atenção e sugestões que enriqueceram a análise e a redação dos resultados.

Agradeço à Assessoria Científica do Instituto Hermes Pardini através dos seus membros, D^f Roberto Santoro Meirelles, D^f William Pedrosa de Lima, D^{ra} Betânia Silva de Moura, D^{ra} Flávia Beatriz Pieroni, D^{ra} Letícia Lima Leão, D^{ra} Marilene Lucinda Silva e D^f Adriano Oliveira Marchi, aos setores de Imunologia e Endocrinologia e à supervisora da Unidade Aimorés, S^{ra} Renata Gonçalves de Castro pela atenção durante a realização da pesquisa.

Aos funcionários do Serviço de Arquivo Médico e Estatística pelo auxílio e receptividade durante a consulta aos prontuários e localização dos pacientes.

Agradeço aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, caminho percorrido durante os anos de formação médica e atualmente pelo carinho, paciência e cuidado durante as solicitações constantes de referências e de consultas bibliográficas para a dissertação.

Agradeço aos pacientes que solidariamente aceitaram nosso convite em participar, voluntariamente, colaborando assim com os estudos e aprofundamento do conhecimento do porvir.

Agradeço aos meus familiares e amigos cuja voz irradia como luz sobre minhas esperanças, sempre atenciosos aos acontecimentos de cada dia, docemente.

Agradeço aos colegas da pós-graduação, aos alunos da graduação e da Iniciação Científica pelo companheirismo, solidariedade, colaborando através de questionamentos e através da própria história que compartilhada vai se transformando em amizade.

“Sim, não tenhamos pressa. Mas não percamos tempo.”
(José Saramago)

Muito obrigada!

Só se consegue a simplicidade
através de muito trabalho. (Clarice
Lispector)

APRESENTAÇÃO

O estudo histopatológico e imunocitoquímico da mucosa gástrica de pacientes com gastrite atrófica do corpo faz parte de todo o conjunto de estudos desenvolvidos no Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina e é parte integrante da linha de pesquisa do Prof. Alfredo Barbosa. Em 2003, a Dr^a Adriana Maria Kakehasi, então aluna de mestrado sob a orientação do Prof. Alfredo Barbosa, analisou a mucosa gástrica de 60 pacientes do sexo feminino no período pós-menopausa correlacionando os achados histológicos com informações sobre a densidade mineral óssea e dados laboratoriais desta amostra de pacientes. Baseou-se, para estas análises, em estudos que colocam em evidência o papel da mucosa gástrica na homeostase óssea. A partir do trabalho desenvolvido com sua pesquisa, surgiu a possibilidade e a motivação para ampliar estas observações e prosseguir com este método para abordagem de novos grupos de pacientes. Foi quando, durante as reuniões do grupo de pesquisa, pensamos em uma condição freqüente em nosso meio - a mucosa gástrica de pacientes com gastrite de origem auto-imune com ou sem anemia perniciosa. Devido a diversidade de apresentações clínicas desta doença, resolvemos agrupar pacientes a partir do diagnóstico histopatológico feito dentro da classe das gastrites atróficas predominantemente do corpo. Os dados que obtivemos e sua análise configuram o presente trabalho que descrevemos a seguir.

RESUMO

A gastrite atrófica predominante do corpo com antro relativamente conservado é a lesão fundamental associada à elevação dos níveis de gastrina sérica e alteração do crescimento/distribuição das células endócrinas na mucosa gástrica oxíntica e antral. O objetivo do estudo foi avaliar as alterações histopatológicas das células endócrinas da mucosa do antro e do corpo gástricos e relacionar estas alterações com os níveis séricos de gastrina e a presença de auto-anticorpos dirigidos contra a célula parietal (anti-CP). Foram estudados 44 pacientes dispépticos submetidos à endoscopia digestiva alta no Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG e que apresentavam ao exame histopatológico gastrite atrófica do corpo com mucosa antral relativamente bem conservada. Foram avaliados nestes pacientes: níveis séricos de gastrina, de vitamina B₁₂, presença do anticorpo anti-CP. Cortes de parafina do antro e do corpo gástrico destes pacientes foram submetidos à coloração das células endócrinas pelo método de Grimelius e para evidenciar as células parietais foi utilizada imunocitoquímica. A hiperplasia das células endócrinas foi encontrada mais frequentemente na mucosa do corpo gástrico. A gastrina sérica dos pacientes apresentou valor médio de 349,5 pg/mL (41,4 – 2.720 pg/mL). As células parietais estavam ausentes (24/44) ou diminuídas: presentes em pequenos aglomerados (8/44), rarefeitas na mucosa (8/44). Auto-anticorpos anti- CP estavam presentes em 32/44 pacientes (72,7%). Não houve relação entre a presença de hiperplasia endócrina do antro e do corpo com os diferentes níveis séricos de gastrina dos pacientes analisados. Concluimos que a presença de hiperplasia endócrina no corpo gástrico pode ser utilizada como marcador útil para indicar provável auto-imunidade dos casos de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Palavras-chave: gastrite atrófica fúndica, gastrinas, hiperplasia de células endócrinas, células parietais gástricas.

ABSTRACT

Atrophic body gastritis with antral mucosa relatively well preserved is frequently associated to hypergastrinemia and endocrine cell hyperplasia of the oxyntic mucosa. The histopathological diagnosis of autoimmune gastritis, mainly in its early stages, may be difficult to recognize. Various degrees of these lesions can also be seen in *H. pylori* multifocal gastritis. The present study was carried out to investigate the presence and the histological pattern of antral and body mucosa endocrine cell proliferation and its possible relationship with hypergastrinemia and autoimmunity. These criteria were evaluated in our series of 44 (10 male, 34 female) out of 194 dyspeptic patients submitted to gastroduodenal endoscopy and presenting body predominant atrophic gastritis, between april/2004 to march/2006 at the Instituto Alfa de Gastroenterologia, Hospital das Clínicas da UFMG, Belo Horizonte, Brasil. Assessment of serum parietal cell antibodies, gastrin-17 and cobalamin levels was performed. The population of parietal cells was simultaneously evaluated by H & E and immunohistochemical staining. Grimelius technique was used for demonstration of argyrophil cells of the antrum and gastric body. Endocrine cell hyperplasia was frequently seen in body mucosa (34cases, 77.3%) and less frequently in antral mucosa (8 cases, 18.2%). Serum gastrin range was 41.4 – 2,720 pg/ml (mean, 349.5 pg/ml). Parietal cells were completely absent in the samples of 24 (54.5%) patients and decreased in number in 16 (36.3%) patients. Parietal cell antibodies were present in 32 (72.7%) patients, 31 of them (96.8%) presented endocrine cell hyperplasia in body mucosa ($p < 0, 0001$). No relationship was noted between the levels of gastrinemia and the degree of endocrine cell proliferation. Our results indicate that the diagnosis of autoimmune atrophic gastritis may be suspected microscopically in endoscopic specimens of the gastric mucosa when the routine histopathological features are combined with the histochemical detection of ECL hyperplasia.

Key-word: autoimmune gastritis, endocrine cell hyperplasia, gastrin, parietal cells

RESUMÉ

La gastrite atrophique fundique avec l'achlorhydrie est la lésion fondamentale associée à l'hypergastrinémie et la prolifération des cellules endocrines de la muqueuse gastrique fundique et antrale. L'objectif du présent travail a été de remarquer les altérations histologiques des cellules argyrophiles hyperplasiées dans la muqueuse gastrique et d'établir la corrélation avec la gastrinémie et la présence des auto-anticorps dirigés contre les cellules pariétales (anti-CP). Les 44 volontaires dyspeptiques ont été choisis dans l'Institut Alfa de Gastroentérologie de l'Hôpital des Cliniques de l'Université Fédérale de Minas Gerais. Ils ont présenté des biopsies de la muqueuse oxyntique avec l'aspect atrophique et la muqueuse antrale bien préservée. Le dosage sérique de la gastrine, de la cobalamine et l'évaluation de la présence/absence de l'auto-anticorps anti-CP ont été prélevés des patients. Les cellules endocrines sont mises en évidence par la méthode de Grimelius et les cellules pariétales sont identifiées par immuno-histochimie. L'hyperplasie des cellules argyrophiles a été observée plus souvent dans la muqueuse gastrique fundique. La gastrine sérique a présenté une valeur moyenne de 349,5 pg/mL (41,4- 2.720 pg/mL). Les cellules pariétales étaient absentes (24/44) ou diminuées: présentes en petites groupées (8/44), rarefiées dans la muqueuse gastrique (8/44). L'auto-anticorps anti-CP étaient présents dans le 32/44 des patients (72,7%). L'hyperplasie endocrine de la muqueuse gastrique fundique et antrale n'est pas associée avec le taux de la gastrine sérique. Il est probable que l'hyperplasie endocrine de la muqueuse gastrique fundique peut être bien utilisée comme un marqueur biologique de la présence de l'auto-immunité des patients avec gastrite atrophique fundique.

Mots-clé: gastrite atrophique fundique, gastrines, hyperplasie des cellules endocrines, cellules pariétales gastriques.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 - (A) Mucosa antral sem alterações histológicas relevantes e (B) Mucosa oxíntica com atrofia acentuada. Paciente MML, 73 anos, sexo feminino, anticorpo anti-CP negativo, *H. pylori* negativo, apresentando GC atrófica predominante do corpo.....70
- FIGURA 2 - (A) Mucosa antral normal. (B) Mucosa oxíntica com atrofia acentuada, substituição das glândulas oxínticas por metaplasia intestinal (*) e metaplasia pseudo-antral (**). Acima, à direita, folículo linfóide. Paciente IRS, 74 anos, sexo feminino, anticorpo anti-CP positivo, *H. pylori* negativo, apresentando GC atrófica predominante do corpo.....70
- FIGURA 3 - (A) Células parietais distribuídas em pequenos aglomerados, coradas pelo método imunocitoquímico utilizando anticorpo monoclonal C₅H₇ específico para os canalículos secretores das células parietais, em paciente com atrofia acentuada da mucosa oxíntica e diagnóstico de gastrite atrófica auto-imune (400x). (B) Células parietais raras na mucosa oxíntica de paciente com atrofia acentuada da mucosa do corpo gástrico (SETA).....71
- FIGURA 4 - Células parietais relativamente freqüentes em paciente com atrofia moderada da mucosa gástrica oxíntica e auto-anticorpo contra célula parietal negativo (200x).....72
- FIGURA 5 - (A) Mucosa antral do paciente CHSS apresentando hiperplasia difusa e linear de células endócrinas coradas pelo método de Grimelius. (B) Detalhe da hiperplasia das células endócrinas da mucosa antral (400x). Gastrina sérica do paciente: 715 pg/mL.....75
- FIGURA 6 - (A e B) Mucosa oxíntica do mesmo paciente da figura anterior (CHSS). Hiperplasia difusa, linear e adenomatóide de células endócrinas coradas pelo método de Grimelius. Hiperplasia adenomatóide: células endócrinas ao longo da circunferência da estrutura glandular em corte transversal em detrimento da presença de células parietais e principais.....75
- FIGURA 7 - Hiperplasia micronodular de células endócrinas (setas) e presença concomitante de hiperplasias difusa, linear e adenomatóide em mucosa oxíntica de paciente do sexo feminino, 64 anos, gastrina sérica de 161 pg/mL, diagnóstico de anemia perniciosa.....76
- FIGURA 8 - Hiperplasia difusa de células endócrinas em mucosa oxíntica da paciente descrita na Figura 7 (400x).....76

FIGURA 9 - Relação entre os tipos de hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica e valores médios de gastrina sérica em pg/mL de 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo. (*) Nível máximo.....79

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 – Relação entre presença de metaplasia intestinal (MI) e o grau de atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias de 44 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.....68
- TABELA 2 – Relação entre a presença de metaplasia pseudo- antral (MPSA) e o grau de atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias de 44 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo68
- TABELA 3 - Relação entre a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica de 42 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo (H.E.) e a presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas na mucosa oxíntica.....73
- TABELA 4 - Relação entre a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica de 42 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo (H.E.) e o tipo de hiperplasia de células endócrinas argirófilas na mucosa oxíntica.....74
- TABELA 5 - Níveis de gastrina sérica em 43 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.....77
- TABELA 6 - Classificação dos níveis elevados de gastrina sérica de 18 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.....77
- TABELA 7 - Relação entre a presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas com os níveis séricos de gastrina em amostras da mucosa oxíntica de 41 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo.....78
- TABELA 8 - Frequência da presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas em amostras da mucosa antral de 41 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e relação com os níveis séricos de gastrina.....80
- TABELA 9 - Relação entre a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias coradas à imunocitoquímica (ICQ) de 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo com os níveis séricos de gastrina.....81

TABELA 10 - Relação entre a presença de auto-imunidade representada pelo auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP) e a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias coradas pelo método de imunocitoquímica (ICQ) em 43 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo.....81

TABELA 11 - Relação entre a presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas em amostras de biópsias da mucosa oxíntica em 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e a presença de auto-imunidade representada pelo auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP).....82

TABELA 12 - Frequência da associação dos níveis de gastrina sérica com a presença de auto-imunidade, representada pela presença de auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP), em amostras de sangue de 43 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo.....83

TABELA 13 - Relação entre a presença da bactéria *Helicobacter pylori* na mucosa antral de 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e a ocorrência de hiperplasia de células endócrinas argirófilas na mucosa antral.....84

TABELA 14 - Relação entre a presença da bactéria *Helicobacter pylori* na mucosa antral de 44 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e a presença de auto-imunidade, representada pelo auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP).....84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AH	hiperplasia adenomatóide
ANTI- CP	auto-anticorpo contra a célula parietal
BAO	<i>Basal acid output</i>
CBP	<i>cobalamin- binding proteins</i>
CCK	colecistocinina
CE	células endócrinas
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CP	célula parietal
DAB	<i>diamino benzidine tetrahydrochloride</i>
DEPE	Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão
ECL	<i>enterochromaffin-like</i>
FI	fator intrínseco
GC	gastrite crônica
GIP	polipeptídeo inibitório gástrico
GLP-1	<i>glucagon-like peptide</i>
HB	hemoglobina
H.E.	hematoxilina- eosina
HLA	<i>human leukocyte antigen</i>
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IAG	Instituto Alfa de Gastroenterologia
ICQ	imunocitoquímica
LH	hiperplasia linear

MH	hiperplasia micronodular
MI	metaplasia intestinal
MPSA	metaplasia pseudo-antral
NEM1	neoplasia endócrina múltipla do tipo 1
p	probabilidade de significância estatística
PAO	<i>Peak acid output</i>
PAP	peroxidase anti-peroxidase
PBS	tampão fosfato-salina
pg/ mL	picograma por mililitro
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatística
SH	hiperplasia simples
TNF α	fator de necrose tumoral α
TPO	peroxidase tireoidiana
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCM	Volume Corpuscular Médio
χ^2	Qui quadrado

SUMÁRIO

1. Introdução	22
2. Revisão da Literatura	25
2.1 Mucosa gástrica normal	25
2.2 Gastrite atrófica do corpo	30
2.3 Gastrite crônica auto-imune e anemia perniciosa	38
2.4 A Gastrina	47
2.5 A hiperplasia de células ECL	51
3. Objetivos	56
4. Material e Método	57
4.1 Seleção dos pacientes	57
4.2 Estudo da mucosa gástrica	58
4.2.1 Colorações para estudo histológico da mucosa gástrica	58
4.2.2 Análise histopatológica pelo H. E.	60
4.2.3 Análise imunocitoquímica das células parietais	61
4.2.4 Análise histopatológica das células endócrinas	61
4.2.5 Infecção pelo <i>Helicobacter pylori</i>	62
4.3 Exames laboratoriais	63
4.4 Análise estatística	64
5. Resultados	65
5.1 Descrição dos pacientes	65
5.2 Descrição da mucosa gástrica	66
5.2.1 Endoscopia	66
5.2.2 Diagnóstico histopatológico pelo H. E.	67

5.2.3	Análise imunocitoquímica das células parietais	71
5.2.4	Análise histopatológica das células endócrinas	73
5.3	Exames Laboratoriais	77
5.3.1	Gastrina sérica	77
5.3.2	Auto- anticorpo contra a célula parietal	81
5.3.3	Hemograma e vitamina B ₁₂ sérica	83
5.4	Infecção pelo <i>Helicobacter pylori</i>	83
6.	Discussão	85
7.	Conclusão	93
8.	Referências	94
9.	Apêndices	100
	Apêndice A - Termo de Consentimento e Participação Livre e Esclarecimento	101
	Apêndice B - Tabela descritiva dos principais resultados da avaliação de 44 pacientes da pesquisa	104
10.	Anexos	105
	Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	106
	Anexo B – Aprovação da Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do HC – UFMG ...	107
	Anexo C – Autorização do Instituto Alfa de Gastroenterologia	108
	Anexo D – Autorização para consulta aos prontuários	109

INTRODUÇÃO

O presente trabalho pretende estudar a presença e os diferentes tipos de hiperplasia das células endócrinas da mucosa gástrica antral e oxíntica no contexto das gastrites crônicas atróficas do corpo e sua relação com os estados de hipergastrinemia e a presença de auto-imunidade. A hiperplasia das células endócrinas pode decorrer de hipergastrinemia exógena, através da administração de gastrina, ou de hipergastrinemia endógena, como por exemplo, conseqüente à Síndrome de Zollinger-Ellison, fundectomia, utilização prolongada de medicamentos anti-secretores, apresentando-se como conseqüência de alterações funcionais da gastrite crônica atrófica do corpo. Como a hiperplasia das células endócrinas pode preceder e é a principal causa dos tumores carcinóides gástricos, esta perspectiva estimula os estudos para elucidar sua fisiopatologia. Na mucosa oxíntica do rato, o desenvolvimento de hiperplasia de células endócrinas argirófilas nas glândulas oxínticas sob o efeito da administração prolongada de omeprazol foi descrita pela primeira vez em 1985. Dentro deste contexto, estados sustentados de hipergastrinemia ocorrem em pacientes que utilizam inibidores da bomba de prótons (LAMBERTS, 1993). Na mucosa gástrica humana, a hipocloridria/ acloridria associada a hipergastrinemia é uma alteração funcional importante associada à Doença de Biermer. É certo que na gastrite de origem auto-imune ou gastrite atrófica do tipo A, em que se desenvolve atrofia acentuada das glândulas da mucosa do corpo gástrico, ocorrem alterações funcionais na mucosa gástrica que levam à diminuição dos níveis séricos de pepsinogênio I e à elevação dos níveis da gastrina sérica (VARIS, 1982). A gastrina aparece como hormônio trófico sobre a mucosa gástrica fúndica e participa da regulação da função e do crescimento das células produtoras de histamina, as células *enterochromaffin-like* (ECL) da mucosa oxíntica, porém com efeito pouco conhecido em situações de alteração das relações celulares na mucosa gástrica humana. Sabe-se de seu papel no eixo células ECL- células parietais na

conhecida relação histamina- secreção ácida, porém a presença de secreção parácrina de gastrina em áreas de metaplasia pseudo- antral que ocorre na evolução da gastrite crônica de origem auto- imune, por exemplo, é alvo de investigação. Existem evidências de que, na espécie humana, a hipergastrinemia parece ser fator indispensável, porém não suficiente para conduzir à carcinogênese. Com a finalidade de se estudar o padrão histológico da mucosa gástrica em pacientes com acloridria e correlacionar estes achados com a população relativa de células produtoras de gastrina e enterocromafins da mucosa antral, Barbosa e cols. (1985) estudaram 20 pacientes com acloridria e observaram que o número de células “G”, produtoras de gastrina, foi muito freqüente na mucosa antral destes pacientes quando comparadas aos controles. Sabe-se, entretanto, que uma população numericamente normal de células “G” hiperfuncionantes pode justificar a presença de hipergastrinemia. Mais recentemente, a dosagem sérica da cromogranina A, glicoproteína expressa pelas células neuroendócrinas localizadas na mucosa gástrica, vem sendo utilizada com boa sensibilidade como marcador de tumores gastro- entero- pancreáticos neuroendócrinos sendo sua principal origem a proliferação de células endócrinas da mucosa gástrica fúndica (BORCH, 1997; PERACCHI, 2005). Apesar disso, níveis séricos aumentados de gastrina e de cromogranina A apresentam especificidade muito baixa para diferenciar pacientes com hiperplasia de células endócrinas daqueles que apresentam tumores carcinóides.

No presente trabalho, não se examinará a possível relação da infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* como fator ambiental na patogênese da gastrite auto-imune. A bactéria *H. pylori* é reconhecida hoje como a principal causa de gastrite crônica e sua presença na mucosa gástrica pode ser detectada em casos de gastrite causada por outros agentes etiológicos. As gastrites crônicas atróficas multifocais cuja etiologia principal é a bactéria *H. pylori* apresentam epidemiologia e prevalência diferentes da gastrite atrófica do tipo A, embora

histologicamente em algumas circunstâncias possam apresentar semelhanças. A presença do *H. pylori* será tratada na presente análise como fator concomitante ao quadro das gastrites atróficas de origem auto-imune e suas relações com as alterações histopatológicas encontradas serão descritas.

Estudar a gastrite atrófica de origem auto-imune sob o aspecto clínico-histopatológico e laboratorial é um assunto interessante pelo fato de serem analisados pontos de vista complementares da doença e, ao mesmo tempo, por permitir demonstrar as conseqüências evolutivas da hipocloridria/ acloridria prolongada em seu estado natural. A investigação apresentada a seguir tem por objeto pacientes do ambulatório do Serviço de Gastroenterologia do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais que apresentavam gastrite crônica atrófica predominante do corpo com mucosa antral relativamente conservada ao diagnóstico histopatológico de rotina. Este estudo faz parte de projeto mais abrangente que visa analisar este grupo comparativamente com outro constituído por pacientes idosas na pós-menopausa, dentro de um contexto maior que envolveria a análise da densidade mineral óssea. No presente estudo propõe-se a análise de um grupo único, onde se enfatiza estudar as características laboratoriais e as alterações na distribuição do componente endócrino da mucosa gástrica, em pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mucosa gástrica normal

A histologia da mucosa gástrica humana apresenta três compartimentos bem definidos: a mucosa do cárdia, do corpo e do antro (mucosa antral). A mucosa do corpo gástrico é também conhecida como mucosa fúndica ou mucosa oxíntica. A mucosa oxíntica humana é composta pelas células parietais, pelas células principais, pelas células mucosas e abriga pelo menos cinco tipos diferentes de células endócrinas. O ácido clorídrico, necessário para a iniciação da digestão péptica, é produzido pelas células parietais e sua presença pode ser detectada na primeira hora de vida em recém-nascidos a partir de 33 semanas de idade gestacional. Estudos sobre a ontogenia destas células em fetos humanos mostram que as células parietais já estão presentes em fetos de 13 semanas de gestação, havendo pequenas diferenças quanto à sua distribuição na mucosa gástrica do feto e do recém-nascido. No feto, as células parietais se estendem ao longo da mucosa do corpo, antro e da região pilórica, enquanto no recém-nascido sua localização é mais limitada à mucosa do corpo, assemelhando-se ao padrão de distribuição encontrado na mucosa gástrica do indivíduo adulto (KELLY, 1993a). As células parietais são responsáveis também pela produção do fator intrínseco. O fator intrínseco é uma glicoproteína de 45 –60 kd cujo papel principal é se ligar a cobalamina permitindo a endocitose receptor-mediada do complexo FI- cobalamina no íleo terminal. Em alguns mamíferos como, por exemplo, o rato, o camundongo e o porco, outras células, entre elas as células principais e as células mucosas, podem produzir fator intrínseco. Na mucosa gástrica, as células se organizam formando as glândulas gástricas. Mais de 75% das glândulas gástricas ocorrem na mucosa oxíntica. As glândulas oxínticas são glândulas tubulosas, ramificadas ou não, e secretam ácido clorídrico, fator intrínseco, pepsinogênio (produzido pelas células

principais) e muco. O pepsinogênio sob ação do pH ácido se converte por autocatálise em pepsina que inicia a proteólise do colágeno. Existem sete isoformas de pepsinogênio; as formas de um a cinco são denominadas pepsinogênio I, forma predominante de pepsinogênio circulante e produzido exclusivamente na mucosa oxíntica pelas células principais e mucosas. O pepsinogênio I apresenta rápida mobilidade eletroforética em ágar gel e, normalmente, pode ser encontrado na urina. As duas outras isoformas, produzidas na mucosa oxíntica, pelas glândulas da mucosa do cárdia, glândulas pilóricas do antro gástrico e glândulas de Brunner na mucosa do duodeno proximal são denominadas pepsinogênio II, apresentam baixa mobilidade eletroforética e sua presença pode ser identificada no fluido seminal. Pepsinogênios I e II, portanto, mostram diferenças quanto à topografia, origem celular e distribuição nos fluidos corporais (CARMEL, 1988; SAMLOFF, 1982a).

A população de células endócrinas da mucosa oxíntica humana é composta principalmente pelas células *enterochromaffin-like* ou células ECL. Elas são o tipo de célula endócrina predominante na mucosa oxíntica do estômago e na espécie humana representam 35% das células endócrinas presentes nesta região. As células ECL produzem e armazenam histamina que estimula a secreção de ácido pelas células parietais. A histamina é o mais potente estímulo secretagogo que atua sobre a função das células parietais. Além das células ECL, encontramos na mucosa oxíntica humana, outras células endócrinas como, por exemplo, as células “D” (26%), produtoras de somatostatina, as células “EC” (25%), produtoras de serotonina e as células *A-like*, “D1” e “P” (14%) (SIMONSSON, 1988). Os estudos sobre as propriedades destas células mostram que todas produzem hormônios peptídeos. Métodos de coloração pela prata e imunocitoquímicos usando anticorpos específicos contra somatostatina, serotonina e cromogranina A permitem estudar a distribuição dos vários tipos de células

endócrinas na mucosa oxíntica e a proporção relativa destas células na mucosa gástrica humana.

As glândulas pilóricas ou antrais são constituídas pelas células mucosas, células principais e células endócrinas. Na porção antral, há três principais tipos de células endócrinas: as células “G”, produtoras de gastrina, as células “D” e as células “EC”. As células “G” não são detectadas antes da 18ª semana de idade gestacional em fetos humanos e não há diferenças significativas em sua distribuição entre fetos e recém-nascidos, localizando-se preferencialmente na mucosa antral. O papel da gastrina nesta etapa do desenvolvimento é incompletamente compreendido. É provável que a gastrina produzida pelo estômago do feto em desenvolvimento possa exercer um papel no desenvolvimento do trato gastrointestinal (KELLY, 1993b). Desta forma, as glândulas antrais secretam principalmente muco para proteção da mucosa antral, pepsinogênio e o hormônio gastrina, secretado pelas células “G” presentes nesta região.

O ácido gástrico tem sua secreção influenciada por fatores nervosos, psíquicos e hormonais. As fases da secreção gástrica conhecidas são as fases cefálica, gástrica e intestinal. A fase cefálica ocorre antes mesmo de o alimento penetrar no estômago ou enquanto está sendo ingerido. Resulta da visão, do olfato, do pensamento ou do paladar, e quanto maior o apetite, mais intenso o estímulo. Os sinais neurogênicos originados no córtex cerebral, centros de apetite da amígdala ou do hipotálamo são transmitidos por meio dos núcleos motores dorsais do vago para o estômago. Estes sinais estimulam a secreção gástrica diretamente através de terminações nervosas com liberação de acetilcolina sobre receptores muscarínicos presentes nas células parietais e principais ou indiretamente através da sua ação sobre os receptores das células ECL. O principal estímulo para a secreção de ácido pela célula parietal é a liberação

de histamina pelas células ECL. O hormônio gastrina também atua como estimulador da secreção ácida. O principal estímulo inibitório é a somatostatina produzida pelas células “D”. A regulação da secreção ácida gástrica é determinada, portanto, pelo controle neural, representado pelo arco vagal e pelo controle hormonal, endócrino e parácrino, que envolve a liberação de mediadores estimulatórios e inibitórios presentes nas células endócrinas da mucosa gástrica (KONTUREK, 2003). Quando o alimento chega ao estômago, inicia-se a fase gástrica da secreção ácida. Esta fase é responsável por pelo menos dois terços da secreção gástrica total associada à ingestão de uma refeição e, por conseguinte, pela maior parte da secreção gástrica diária total, que é da ordem de 1.500mL. Nesta fase, a secreção do suco gástrico prossegue durante as várias horas em que o alimento permanece no estômago e o principal hormônio que atua nessa fase é a gastrina secretada pelas glândulas do antro ricas em células “G”. A fase intestinal da secreção gástrica tem início com a presença do alimento na porção superior do intestino delgado em particular no duodeno, e, com frequência, os fatores intestinais exercem mais fatores inibitórios da secreção do que estimulatórios (GUYTON, 1992). Alguns fatores provocam alterações nos mecanismos que controlam a secreção ácida gástrica. Medicamentos, como os inibidores da $H^+ K^+$ ATPase gástrica humana ou bomba de prótons e dos receptores H_2 , por exemplo, bloqueiam a secreção ácida. A infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), cirurgias (vagotomia, gastrectomia, antrectomia), tumores (gastrinomas, tumores carcinóides) interferem na secreção ácida gástrica através de diferentes mecanismos. Estudos sobre o efeito da idade sobre a secreção ácida gástrica são controversos. Pacientes idosos podem apresentar redução do número de células mucosas, embora não esteja comprovado que a secreção ácida decline com o avançar da idade em indivíduos saudáveis (FARINATI, 1993; FELDMAN, 1996; NEWTON, 2005). A redução ou ausência da secreção ácida caracteriza estados de hipocloridria ou acloridria, respectivamente. Níveis baixos de ácido parecem não interferir nas funções digestivas, mas

afetam a capacidade de defesa do estômago contra infecções e prejudicam a biodisponibilidade de determinadas substâncias que sob efeito do ácido se desligam de carreadores protéicos ou alteram suas características iônicas, facilitando sua absorção no intestino delgado. A cobalamina ou vitamina B₁₂, por exemplo, é uma vitamina hidrossolúvel que se encontra fortemente ligada às proteínas dos alimentos. O ácido gástrico e a pepsina liberam a cobalamina destas proteínas no estômago (ANDRÈS, 2004b; MARCUARD, 1994). O ácido gástrico é importante para a mobilização do cálcio de complexos insolúveis da dieta facilitando a absorção do mesmo pelo intestino delgado. Estudos recentes de Persson e cols. (1993) tentam elucidar o papel da secreção ácida gástrica na absorção e homeostase do cálcio e estados de acloridria estão sendo investigados quanto a sua correlação com a densidade mineral óssea em ratos.

O mecanismo da secreção ácida gástrica é feito através da H⁺ K⁺ adenosina trifosfatase (H⁺ K⁺ ATPase) ou bomba de prótons presente na membrana celular dos canalículos secretores e dos microvilos das células parietais. Assim como a Na⁺ K⁺ ATPase e a Ca⁺ ATPase, a H⁺ K⁺ ATPase pertence à família das ATPases, família de proteínas altamente conservadas, responsáveis pelo transporte de íons ATP-dependente através das membranas celulares dos mamíferos. Estas proteínas são caracterizadas estruturalmente por apresentarem duas subunidades, a subunidade catalítica α que é fosforilada durante o ciclo da reação e a subunidade glicosilada β (TOH, 1990). A H⁺ K⁺ ATPase é, pois, um heterodímero, a subunidade α compõe-se de aminoácidos localizados na face interna da membrana celular apresentando oito domínios transmembrana, com peso molecular estimado de 92 kd e a subunidade β localizada na face externa da membrana celular com peso molecular de aproximadamente 60 a 90 kd (ALDERUCCIO, 2002). Os canalículos secretores das células parietais são canais que permitem a passagem do ácido clorídrico para o lúmen gástrico. A

enzima promove o transporte ativo celular com a extrusão do íon hidrogênio para o lúmen gástrico e a troca pelo íon potássio. A célula parietal em repouso apresenta numerosas vesículas ou tubulovesículas intracitoplasmáticas e, após estímulo secretagogo da acetilcolina, gastrina e histamina, ocorre translocação e fusão destas vesículas à superfície apical da membrana celular aumentando a superfície de contato com o meio exterior, expondo um grande número de canaliculos onde está presente a $H^+ K^+$ ATPase (GLEESON, 1991). A expressão desta enzima está presente em fetos a partir da 25ª semana de gestação, ocorrendo aumento na sua expressão até a 42ª semana, sendo este aumento mais significativo em meninos do que em meninas (GRAHNQUIST, 2000).

2.2 Gastrite atrófica do corpo

As gastrites são classificadas em agudas ou crônicas e entre as últimas, do ponto de vista morfológico, em atróficas, não-atróficas e especiais, segundo o Sistema de Sydney (DIXON, 1996). Esta classificação apresenta variedade de denominações em estudos anteriores ao Sistema de Sydney. Atualmente, as gastrites atróficas se classificam de acordo com a provável etiologia em: (a) auto-imunes (gastrite atrófica difusa do corpo ou tipo A), (b) multifocais (pangastrite ou gastrite tipo AB) cuja atrofia acomete antro e corpo gástricos e cujo agente etiológico principal é o *H. pylori*. As gastrites não-atróficas consistem em amplo espectro de alterações histológicas do antro gástrico (gastrite tipo B), a maioria delas também associadas à infecção pelo *H. pylori*. As formas especiais são as gastrites causadas por efeito de irritantes químicos (medicamentos, refluxo biliar, álcool, tabagismo), radiação, infiltração de linfócitos (gastrite linfocítica de origem idiopática ou relacionada a mecanismos auto-imunes), infiltração de eosinófilos (gastrite eosinofílica), ocorrência de doenças granulomatosas

(Sarcoidose, Granulomatose de Wegener, corpos estranhos) ou secundárias a outras infecções (citomegalovírus, fungos, presença de outros parasitas).

A atrofia da mucosa gástrica é caracterizada pelo adelgaçamento da mucosa do estômago devido à diminuição do componente glandular. Quando ocorre na mucosa do corpo resulta em hipocloridria ou acloridria. Paralelamente, ocorre redução da produção ou até mesmo ausência de secreção do fator intrínseco e de pepsinogênio. A mucosa gástrica humana normal apresenta em média 0,6- 0,8mm de espessura e uma superfície com rugosidades que, nos quadros de atrofia, desaparecem, deixando a superfície lisa e a parede gástrica adelgada. A gastrite atrófica predominante do corpo com preservação da integridade da mucosa antral é a lesão fundamental que define a gastrite do tipo A em cuja origem provavelmente intervêm fatores genéticos e mecanismos auto-imunes. Esta atrofia tem como principal consequência, em sua evolução, o desenvolvimento de anemia macrocítica por deficiência de absorção de cobalamina (vitamina B₁₂) devido a falta de secreção gástrica de fator intrínseco (MONGIN, 1993). A gastrite atrófica do tipo A ou de origem auto-imune é condição relativamente rara entre os países europeus, como França e Alemanha, com prevalência estimada de 3-4% dos casos de gastrite crônica atrófica (EIDT, 1996; POTET, 1993; VARIS, 1982). Para adequada avaliação da mucosa gástrica em pacientes com suspeita de gastrite atrófica do tipo A, a recomendação atual é biopsiar antro e corpo gástricos em frascos distintos para cada uma dessas áreas e obter ao menos seis fragmentos da mucosa do corpo incluindo amostras da região da pequena e grande curvaturas (DIXON, 1996).

A histopatologia da gastrite atrófica do tipo A nos seus estágios finais apresenta como alteração mais relevante a extensa atrofia na mucosa do corpo com substituição das glândulas oxínticas por epitélio metaplásico do tipo intestinal ou pilórico. Por outro lado, a mucosa do

antro apresenta inflamação discreta ou quadro microscópico sem alterações relevantes. Recentemente, o estudo da mucosa oxíntica de pacientes com testes sorológicos positivos para a presença de auto-anticorpo dirigido contra a célula parietal demonstrou variações histopatológicas entre os pacientes, desde pequena redução no número de células parietais à completa ausência destas células na mucosa gástrica (EIDT, 1996). Atualmente, algumas alterações histopatológicas vêm sendo descritas como precursoras de gastrite atrófica do tipo A antecedendo a perda completa das glândulas da mucosa oxíntica: 1) presença de infiltrado de mononucleares na lâmina própria, mais frequentemente localizados profundamente nas porções glandulares da mucosa, 2) infiltração de *foci* de linfócitos com freqüentes focos de destruição das glândulas oxínticas nestas regiões, 3) presença de metaplasia intestinal ou pilórica, 4) pseudo-hipertrofia das células parietais remanescentes, nestas circunstâncias, estas alterações são parecidas às encontradas nas células parietais de pacientes que usam inibidores da bomba de prótons. Finalmente, pode-se observar, nos estágios mais avançados da doença, que em aproximadamente um terço dos casos ocorre hiperplasia das células *enterochromaffin-like* (ECL). Entretanto, devido ao amplo espectro histológico da gastrite crônica atrófica do tipo A, desde o início da evolução aos quadros mais exuberantes, esta é freqüentemente subdiagnosticada nos espécimes de biópsias endoscópicas e são comuns muitas dificuldades na sua avaliação. Isso se deve em parte ao fato de que nenhum dos achados histológicos acima descritos são, isoladamente, diagnóstico para gastrite atrófica do tipo auto-imune. Condições patológicas em que inflamação e atrofia da mucosa atingem a zona de transição mucosa oxíntica-antro podem mimetizar o modelo de atrofia e metaplasia pilórica encontrada na gastrite atrófica do tipo auto-imune. Finalmente, a hiperplasia de células ECL é difícil de ser reconhecida com segurança pelo método rotineiro do H. E (TORBENSON, 2002).

A metaplasia intestinal, alteração do fenótipo de células gástricas para outro espectro de células com características intestinais, pode ser conseqüente à gastrite crônica principalmente induzida pela bactéria *Helicobacter pylori*. A metaplasia intestinal é encontrada na mucosa gástrica de pacientes com gastrite crônica atrófica de origem auto-imune com freqüência entre 75-91% e sua morfologia varia entre os tipos I, II e III (PETERSSON, 2002). Pacientes com gastrite auto-imune têm chance três a quatro vezes maior que a população geral de desenvolver carcinoma gástrico, porém Petersson e cols. (2002) encontraram a mesma prevalência de metaplasia do tipo III entre pacientes com gastrite atrófica auto-imune e a população geral sugerindo que outros fatores estão envolvidos na patogênese do câncer nestes pacientes.

Estudos de Otsuka e cols. (2005), em Tóquio, demonstraram a coexistência de células endócrinas produtoras de gastrina e somatostatina em áreas de metaplasia na mucosa fúndica de pacientes que apresentavam gastrite atrófica do corpo. O fenótipo dos túbulos glandulares após coloração imunocitoquímica específica para essas células revelou que na mucosa fúndica em áreas de metaplasia pseudo-antral a ocorrência de células “G” foi de 31,6% e de células “D”, 26,5%. Assim, em áreas de metaplasia pseudo-antral na mucosa do corpo, o fenótipo das células endócrinas foi similar àquelas das glândulas pilóricas normais presentes na mucosa antral. Em áreas de metaplasia intestinal essas células (“G” e “D”) não foram identificadas, porém células endócrinas de localização tipicamente intestinal foram encontradas. Na mucosa fúndica, em áreas de metaplasia intestinal foram identificados 21,3 - 32,8% de células positivas para glicentina, 26,9-32,4% de células positivas para GIP e 43,4 - 43,83% de células positivas para GLP-1 (*glucagon-like*). Sabe-se que a glicentina e o enteroglucagon apresentam efeitos tróficos para as células epiteliais intestinais e que este último também exerce ações sobre a motilidade gástrica.

Estudo de Eidt e cols. (1996) sobre o espectro histopatológico da gastrite do tipo auto-imune mostrou através da análise retrospectiva de 171 casos consecutivos que a presença de agregados linfóides na mucosa oxíntica foi mais alta nos quadros pré-atróficos ou com atrofia menos acentuada (77,8%) do que nos casos com atrofia acentuada da mucosa oxíntica (48,1%). A infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* foi de 14,9% nos quadros pré-atróficos e de 1,9% entre os pacientes com atrofia acentuada da mucosa oxíntica. A prevalência de metaplasia intestinal foi de 44,4% nos estágios pré-atróficos e de 75% nos casos com atrofia acentuada. A hiperplasia das células endócrinas aumentou linearmente com aumento do grau de atrofia das células parietais. Os achados histopatológicos descritos por Eidt e cols. em períodos pré-atróficos da gastrite auto-imune são importantes por demonstrar as diferentes etapas evolutivas da gastrite atrófica do tipo A.

Torbenson e cols. (2002) desenvolveram estudo semelhante em Baltimore. Estudando amostras de biópsias de antro e corpo de 40 pacientes procederam a exames sorológicos para dosagens do auto-anticorpo contra a célula parietal ou do auto-anticorpo contra o fator intrínseco para definição de possível etiologia auto-imune. As células endócrinas foram demonstradas através de coloração imunocitoquímica para Cromogranina A. Encontrou-se hiperplasia de células endócrinas em 11/13 ($p < 0,001$; Teste do χ^2) pacientes em estágios precoces de gastrite, com sorologia positiva para gastrite do tipo auto-imune, ou seja, presença do auto-anticorpo contra a célula parietal ou contra o fator intrínseco. Nestes pacientes, a média da gastrina sérica foi mais alta que nos pacientes com perfil indeterminado ou negativo para auto-imunidade. Este estudo demonstrou que a hiperplasia de células endócrinas pode se apresentar como marcador para a gastrite auto-imune em etapas precoces da doença.

A atrofia gástrica pode ser estimada indiretamente pela diminuição ou ausência de secreção ácida gástrica. A dosagem de secreção ácida gástrica pode ser feita antes e após estímulo com pentagastrina com o objetivo de mensurar e detectar estados de hipocloridria ou acloridria associados a condições que cursam com atrofia da mucosa gástrica. O procedimento consiste em colher a secreção gástrica através de tubo nasogástrico por sucção intermitente, posicionado adequadamente no antro. A acidez é determinada pela medida do pH e a produção da secreção ácida basal (BAO) e da secreção ácida estimulada com a pentagastrina administrada por via subcutânea (PAO) são obtidas multiplicando-se o volume da secreção gástrica aspirada pela acidez encontrada. As medidas podem ser expressas em mmol/h (FELDMAN, 1996).

A dosagem sérica de gastrina é útil para se avaliar indiretamente a presença de atrofia da mucosa gástrica, pois estados de hipocloridria/ acloridria cursam com hipergastrinemia secundária. A gastrina secretada pela mucosa do antro estimula, por via sanguínea, as células do fundo gástrico responsáveis pela secreção cloridropéptica. Por outro lado, a presença da acidez do suco gástrico bloqueia a produção de gastrina. A hipocloridria/ acloridria que se instala associada a perda das células parietais diminui a sinalização da atividade das células parietais produtoras de ácido às células produtoras de gastrina no antro gástrico. Nesta condição, as células “G” antrais respondem com uma produção contínua e aumentada do hormônio. Apesar da produção aumentada de gastrina, na ausência das glândulas oxínticas não ocorre a resposta correspondente ao estímulo hormonal com a esperada produção de ácido, estabelecendo-se um estado de hipergastrinemia sustentada. A dosagem sérica da gastrina pode ser feita no soro venoso dos pacientes utilizando-se anticorpo específico contra gastrina humana através de métodos como o radioimunoensaio ou quimioluminescência. O

resultado pode ser expresso em pmol/mL ou pg/mL. Recomenda-se que a dosagem das concentrações basais da gastrina sérica seja obtida após jejum de 10 horas pelo fato do nível sérico de gastrina ser influenciado pela alimentação e pH intragástrico. Níveis elevados de gastrina são detectados em até 90% dos pacientes com atrofia acentuada da mucosa do corpo gástrico, sendo a gastrite atrófica auto-imune a causa mais comum de hipergastrinemia (CARMEL, 1988; VARRO, 2003). Nestes pacientes, os níveis de gastrina sérica são 10-20 vezes mais altos que os níveis normais (FREESTON, 1995). Estudo de Berger e cols. (2001) em pacientes com a Síndrome de Zollinger-Ellison classificou os aumentos da gastrina sérica como leves quando os valores séricos eram inferiores a 499pg/mL, aumento moderado, quando os valores atingiam entre 500-1.000pg/mL e como acentuados, quando os valores da gastrina sérica eram superiores a 1.000pg/mL. Em pg/mL os níveis normais de gastrina sérica variam conforme o fabricante e método utilizado, mas oscilam em geral entre 50-100pg/mL (BELAICHE, 1993). Para fins de avaliação de atrofia gástrica devemos considerar que a hipergastrinemia pressupõe a integridade funcional das células “G” antrais, essa observação pode desaparecer caso a gastrite provoque uma atrofia global da mucosa do estômago. A hipergastrinemia pode ser conseqüente a outras causas além da atrofia gástrica, como por exemplo, da secreção inapropriada de gastrina, na Síndrome de Zollinger-Ellison, ou pode eventualmente ocorrer por efeito medicamentoso de bloqueadores dos receptores H₂ ou principalmente do omeprazol. A gastrina pode se elevar moderadamente em casos de insuficiência renal. Entretanto, taxas elevadas de gastrina são encontradas mais freqüentemente associadas a gastrite atrófica do fundo respeitando ou conservando a integridade da mucosa antral (MONGIN, 1993).

Entre os métodos sorológicos para se estimar a atrofia da mucosa gástrica fúndica estudos sobre a dosagem de pepsinogênio sérico mostram que dosagens séricas baixas de

pepsinogênio I estão presentes em 92% de pacientes com gastrite atrófica acentuada do corpo e a razão pepsinogênio I/ pepsinogênio II em combinação com o nível sérico de pepsinogênio I se correlaciona com o “*status*” histológico da mucosa gástrica para predizer o grau de atrofia (KEKKI, 1991; SAMLOFF, 1982b).

A gastrite atrófica multifocal ou pangastrite crônica associada ao *H. pylori* pode ser, em alguns casos, confundida histologicamente com os estágios precoces da gastrite do tipo auto-imune. A diferenciação pode ser feita quando se observa que a gastrite atrófica é multifocal, ou seja, a inflamação e a atrofia estão presentes no antro e no corpo, a gastrina sérica apresenta-se normal ou baixa, neste caso como resultado da atrofia da mucosa antral onde se localizam as células “G”. Entretanto, pequena proporção de pacientes com infecção pelo *H. pylori* pode desenvolver graus acentuados de atrofia da mucosa gástrica do corpo. O mecanismo fisiopatológico deste fenômeno ainda não foi esclarecido. Sabe-se que a progressão da atrofia depende da interação de fatores do hospedeiro e da bactéria. O maior fator de virulência da bactéria estudado é a proteína CagA. O lipopolissacarídeo bacteriano é descrito como fator importante na resposta inflamatória gástrica à infecção pelo *H. pylori*. O lipopolissacarídeo promove a *up-regulation* da expressão de endotelina-1, indução da produção de TNF- α propagando a resposta inflamatória gástrica. Os fatores do hospedeiro que vêm sendo investigados para esclarecer a fisiopatologia da atrofia nos casos de infecção pelo *H. pylori* são o polimorfismo do gene da interleucina 1 e a definição do HLA. Todos esses fatores ainda se encontram em fase de estudos. Auto-anticorpos contra a célula parietal podem ser detectados nos pacientes com infecção pelo *H. pylori* e sua presença nestes pacientes associam-se a graus mais acentuados de atrofia (ITO, 2002). Questiona-se se o *H. pylori* pode atuar como indutor/agente iniciador ou “gatilho” das reações de auto-imunidade na mucosa gástrica que evoluirão para a gastrite auto-imune (NEGRINI, 1996). Existem

evidências de homologia entre a subunidade β da urease do *H. pylori* e a bomba de prótons (UIBO, 1995), porém ainda não está esclarecido se a resposta imune aos antígenos da bactéria pode se voltar contra o próprio hospedeiro através da produção de auto-anticorpos que irão agredir a bomba de prótons. De Block e cols. (2004) em estudo com pacientes diabéticos do tipo 1 encontraram que a infecção pelo *H. pylori* foi similar entre os pacientes com sorologias positiva e negativa para o auto-anticorpo contra a célula parietal e que a presença da bactéria não influenciou os níveis de gastrina, cromogranina A, enolase neurônio-específica e níveis urinários do ácido hidroxindolacético. Sabe-se que a bactéria é o principal agente etiológico para o desenvolvimento da gastrite crônica não-imune (tipo B) associada à úlcera duodenal e que a atrofia presente na gastrite de origem auto-imune torna o meio pouco conveniente à colonização pela bactéria. Estudos desenvolvidos nas últimas décadas mostram frequência de colonização pela bactéria nestes pacientes que varia de 3,5-21% (HARUMA, 1995). Até o momento a fisiopatologia das doenças auto-imunes órgão-específicas é assunto controverso e acredita-se que na origem destas desordens crônicas possam estar envolvidos fatores genéticos, ambientais e imunológicos (PRESOTTO, 2003).

2.3 Gastrite crônica auto- imune e anemia perniciosa

A gastrite atrófica de origem auto-imune é uma doença órgão-específica, inicialmente descrita em mulheres do norte europeu, mas que afeta a população afro-americana e latino-americana. Caracteriza-se microscopicamente por infiltrado de linfócitos na mucosa e submucosa do corpo/fundo do estômago, degeneração e depleção das células parietais e principais com substituição destes componentes por células mucosas e do tipo intestinal (metaplasia intestinal) e hiperplasia das células endócrinas da mucosa gástrica. Atualmente, as evidências para a origem auto-imune da gastrite são sustentadas pela presença de infiltrado mononuclear

na mucosa gástrica, presença de auto-anticorpos contra a célula parietal e contra o fator intrínseco, predisposição familiar, associação da doença a endocrinopatias auto-imunes e pela regeneração das células parietais e zimogênicas após tratamento com corticóides ou medicamentos imunossupressores (TOH, 1997). Estudos em camundongos sugerem que a gastrite se associa a resposta imune mediada por linfócitos T CD4 (TH1), dirigida às subunidades α e β da bomba de prótons na lâmina própria e que provavelmente a subunidade β é o antígeno que direciona a resposta auto-imune (TOH & ALDERUCCIO, 2004).

Auto-anticorpos contra a célula parietal estão associados a gastrite atrófica de origem auto-imune e ocorrem com frequência em pacientes com anemia perniciosa (CARMEL, 1992). Esses auto-anticorpos se dirigem contra as subunidades α e β da $H^+ K^+$ ATPase ou bomba de prótons (KARLSSON, 1988) Os métodos disponíveis para a dosagem sérica destes auto-anticorpos têm sensibilidade de até 90% em pacientes com gastrite atrófica de natureza auto-imune e na gastrite atrófica auto-imune sem anemia perniciosa esses anticorpos circulantes são menos frequentes (30-60%) (BURMAN, 1991). Podem estar presentes em 3-10% de indivíduos saudáveis sem evidências histológicas de gastrite atrófica e em pacientes com outras doenças auto-imunes de modo que seu papel na patogênese da gastrite atrófica restrita ao corpo ainda permanece desconhecida (ALDERUCCIO, 2002).

Auto-anticorpos contra o fator intrínseco são mais específicos e se apresentam mais frequentes em pacientes com anemia já estabelecida. O auto-anticorpo contra o fator intrínseco ocorre em até 60% dos pacientes com gastrite auto-imune. Existem dois tipos deste anticorpo: (a) tipo I ou bloqueantes que se combinam ao sítio de ligação da vitamina B₁₂ ao fator intrínseco inibindo a fixação da cobalamina ao fator intrínseco; (b) tipo II ou precipitantes que bloqueiam a ligação do complexo vitamina B₁₂-fator intrínseco ao receptor

ileal. Estes últimos são encontrados em menos de 30% dos casos, somente em pacientes com anemia perniciosa que já apresentam os anticorpos do tipo I, por isso não têm valor diagnóstico. Ambos os anticorpos podem ser encontrados no suco gástrico e no soro de pacientes com gastrite crônica atrófica de origem auto-imune, entretanto, o seu papel patogênico não está claramente definido (ZITTOUN, 2001).

A diminuição no número de células parietais acarreta a diminuição da produção do fator intrínseco que juntamente com a presença de anticorpos contra o fator intrínseco prejudicam a absorção da cobalamina pelo paciente. Uma das conseqüências clínicas a longo prazo da gastrite atrófica auto-imune é a deficiência de vitamina B₁₂ secundária à deficiência do fator intrínseco e o desenvolvimento de eritropoiese megaloblástica, condição esta conhecida como anemia perniciosa. Assim a anemia perniciosa é uma das manifestações clínicas associada à gastrite atrófica do fundo gástrico de origem auto-imune. Sua tradução hematológica clássica é anemia macrocítica com leucopenia e trombocitopenia moderadas ou mesmo pancitopenia decorrentes de eritropoiese ineficaz. Também conhecida por anemia de Biermer, mais recentemente dá-se preferência à expressão doença de Biermer, visto que esta afecção pode ser diagnosticada atualmente na ausência de anemia ou de qualquer outra anormalidade hematológica, sendo comum a ocorrência de sinais e sintomas neurológicos, e de encontrarmos a doença dentro do contexto de outras manifestações auto-imunes (ZITTOUN, 2001). Historicamente, de evolução fatal, daí a origem da denominação “anemia perniciosa”, suas primeiras descrições foram feitas em 1824, por D^f James Combe, em Edimburgo; em 1855, por D^f Thomas Addison, em Londres e em 1872, por D^f Antoine Biermer, em Zurique. A associação entre a deficiência nutricional e a acloridria gástrica veio a ocorrer quase um século depois quando o D^f Hurst demonstrou a ausência de ácido no suco gástrico de pacientes com anemia perniciosa. Na época, o tratamento dos pacientes baseava-se em

administrar fígado cozido ou músculo bovino associado ao suco gástrico, diariamente, por via oral, o que reduzia significativamente a evolução fatal destes pacientes, porém sem corrigir adequadamente a presença da anemia, conforme publicado pelos D^{rs} Minot e Murphy em 1926. Em 1930, estudos realizados por Castle corroboravam que “uma reação acontecia entre um fator intrínseco desconhecido presente no suco gástrico e um fator extrínseco presente no fígado cozido”. Elegantes estudos realizados por Hoedemaeker e cols., em 1964, na Holanda demonstraram que o fator intrínseco era produzido pela célula parietal. O isolamento da vitamina B₁₂ ocorreu em 1948 através do trabalho de dois grupos de pesquisa, liderados pelos D^{rs} Karl Folkers e E. Lester Smith. Entretanto a ocorrência de baixos níveis de cobalamina observado em alguns pacientes sem qualquer alteração hematológica e presentes em outras condições que não a doença de Biermer prolongou as discussões sobre o papel da vitamina B₁₂ na gênese da anemia perniciosa até a segunda metade do século passado (CASTLE, 1953; CHANARIN, 2000).

Os critérios atuais para definir anemia perniciosa foram feitos em 1987 por Chanarin, onde o diagnóstico de anemia perniciosa requer a demonstração de hematopoiese megaloblástica através da análise da medula óssea, na deficiência de vitamina B₁₂ secundária à deficiência de fator intrínseco. Para demonstração da deficiência de fator intrínseco é necessária a realização de testes de absorção da cobalamina com e sem a administração concomitante de fator intrínseco exógeno. O teste de absorção descrito por Schilling em 1953 permite a confirmação da malabsorção da cobalamina depois da ingestão de 57-cianocobalamina. Em casos de malabsorção menos de 10% de radioatividade ingerida é eliminada na urina de 24hs. Esta malabsorção é corrigida quando o teste é repetido a seguir com a administração do radioisótopo juntamente com fator intrínseco exógeno. O teste de absorção descrito por Schilling apresenta dificuldades na interpretação devido a problemas inerentes ao próprio

teste: 1) coleta de urina de 24hs inadequada, 2) presença de insuficiência renal, 3) supercrescimento bacteriano no intestino, 4) malabsorção do complexo cobalamina-fator intrínseco causada por outra doença intestinal que não anemia perniciosa. Isto torna seu emprego pouco usual, restrito a circunstâncias em que métodos mais convencionais falham em estabelecer o diagnóstico (MARKLE, 1996).

A cobalamina participa como cofator para a síntese de DNA e metilação das bainhas de mielina dos nervos. Na sua deficiência, as células não se dividem em suas taxas habituais e a cromatina permanece no interior de células gigantes. Os pacientes podem apresentar sinais e sintomas em outros tecidos de rápida renovação celular como, por exemplo, megaloblastose da mucosa do trato digestivo, onde diarreia, vômito, dor abdominal e glossite atrófica são freqüentemente notados. A carência da mielinização é responsável pelos sintomas neurossensoriais de parestesias, neuropatia periférica, arreflexia tendinosa, problemas com a sensibilidade profunda e ataxia. Essas lesões progridem de desmielinização a degeneração axonal culminando com morte neuronal. Esses problemas são mais localizados nos membros inferiores que superiores, acometendo fibras nervosas longas. Os problemas psíquicos graves, como quadro demencial, depressão e perda de memória são por vezes descritos, conhecidos no passado como loucura megaloblástica, geralmente são amenizados com a administração parenteral da cobalamina. A síndrome neurológica pode não regredir totalmente, deixando algumas seqüelas, mesmo após tratamento adequado (TOH, 1997; ZITTOUN, 2001). Uma das hipóteses para explicar a fisiopatologia do acometimento neurológico é a toxicidade aos nervos do acúmulo do ácido metilmalônico nos tecidos na ausência da cobalamina. A vitamina B₁₂ é cofator da enzima adenosil-mutase, responsável pela conversão desse ácido orgânico em ácido succínico no organismo. A anemia perniciosa está associada à completa perda da produção ácida gástrica, marcante hipergastrinemia e hiperplasia de células

endócrinas na maioria dos pacientes. Carcinóides gástricos e câncer gástrico ocorrem com prevalência de 3-7% (MCCLOY, 1995).

A cobalamina é absorvida em pequenas quantidades por difusão simples na mucosa da boca e, no estômago, liga-se ao primeiro carreador protéico, convencionalmente denominado de proteína R, para no duodeno se ligar ao fator intrínseco. A acidez gástrica tem papel importante na disponibilização da cobalamina dos alimentos para sua ligação com o fator intrínseco. Este processo é fundamental para proteção da cobalamina do efeito das enzimas pancreáticas, pois o fator intrínseco é uma proteína resistente à digestão proteolítica, preservando a cobalamina até sua absorção nos 80 cm distais do íleo (ANDRÈS, 2004a). A endocitose é mediada por receptores protéicos específicos presentes na borda em escova da mucosa ileal, denominadas transcobalaminas. A transcobalamina I pertence à família das *cobalamin-binding proteins* (CBP), derivada em grande parte dos granulócitos e em circunstâncias normais transporta aproximadamente 80% da cobalamina sérica circulante, enquanto a transcobalamina II localiza-se na superfície basolateral dos enterócitos, responsável pela captação do complexo cobalamina-fator intrínseco. A síntese de transcobalamina II pode ser demonstrada em outros tecidos como, por exemplo, no endotélio do cordão umbilical, hepatócitos, fibroblastos e células da medula óssea (MARKLE, 1996). O fígado é o principal órgão de armazenamento da cobalamina, as reservas hepáticas de adultos normais são estimadas em 2.000 – 5.000mcg. Em condições de deficiência na absorção da cobalamina, como a doença de Biermer, as reservas hepáticas levam aproximadamente 5-10 anos para serem depletadas (TOH, 1997). Estima-se que a anemia perniciosa somente se manifesta em estágios muito avançados da gastrite do tipo auto-imune, quando encontramos densidade de células parietais três vezes menores que os índices normais e as reservas hepáticas da cobalamina se esgotam. A deficiência de cobalamina é definida após dosagem

dos seus valores séricos ou, mais recentemente, através das dosagens de homocisteína ou de ácido metilmalônico, componentes do caminho metabólico da vitamina B₁₂. Níveis séricos de cobalamina que definem a deficiência em pessoas idosas são duas dosagens menores que 100 pg/mL em duas ocasiões distintas ou uma dosagem de cobalamina menor que o valor de referência associado a níveis elevados de homocisteína sérica ou de ácido metilmalônico na ausência de deficiência de ácido fólico (ANDRÈS, 2004a). Entretanto, sabe-se que indivíduos negros apresentam níveis normalmente mais altos de cobalamina (valor médio de 577pg/mL) que indivíduos brancos (valor médio de 427pg/mL). Entre a população latino-americana, os níveis normais de cobalamina em média são de 482pg/mL. Dessa forma, os valores inferiores de referência para interpretação dos níveis séricos da cobalamina podem não ser aplicáveis a todos os indivíduos e nos estudos devem ser considerados o grupo populacional e étnico. Os valores de referência inferiores para os grupos citados anteriormente, respectivamente, segundo Markle (1996) devem ser: 234pg/mL, 166pg/mL e 200pg/mL.

A deficiência de cobalamina pode ser causada por deficiência dietética ou malabsorção. Entre os fatores que podem prejudicar a absorção de cobalamina encontramos, além da gastrite atrófica, o uso de medicamentos, como antagonistas H₂ e inibidores da bomba de prótons, que ao diminuírem a acidez gástrica prejudicam a liberação da vitamina B₁₂ de carreadores protéicos alimentares, biguanidas; infecção pelo *H. pylori*, alcoolismo crônico, proliferação intestinal microbiana secundária ao uso de antibióticos, doenças inflamatórias que acometem o íleo distal, como doença de Crohn, ressecções ou reconstruções gástricas (fundectomia, cirurgias de *bypass* para tratamento da obesidade) e das porções terminais do intestino delgado, doenças congênitas. Atualmente, a proposta do tratamento é através do uso da hidroxicobalamina parenteral aplicando-se 1mg por semana, durante duas semanas, seguida da aplicação da mesma dose a intervalos regulares. A deficiência congênita de fator intrínseco

ou a secreção de fator intrínseco sem função biológica é conhecida como anemia perniciosa juvenil e não está associada a gastrite atrófica ou a acloridria. É um problema raro, e a manifestação clínica da deficiência ocorre precocemente nos primeiros dois anos de vida sugerindo a falta de secreção congênita de fator intrínseco (MCINTYRE, 1965). A deficiência das proteínas ligadoras da cobalamina, transcobalaminas I e II como causas de deficiência de absorção de cobalamina também é descrita (MARKLE, 1996).

A gastrite crônica atrófica de origem auto-imune apresenta-se associada em parcela significativa dos casos a outras manifestações auto-imunes. Essas doenças podem preceder a doença de Biermer ou se associarem ao curso da doença. Na história destes pacientes encontramos frequência de 10% de hipotireoidismo e outras doenças auto-imunes freqüentemente encontradas são diabetes melito do tipo I, tireoidites, Doença de Addison, púrpura trombocitopênica idiopática, Síndrome de Sjogren, vitiligo, dermatite herpetiforme, hipoparatiroidismo primário, *miastenia gravis*. Sabe-se que o diabetes do tipo 1 resulta da destruição auto-imune das células β pancreáticas e que auto-anticorpos contra célula parietal são encontrados em 15-20% desses pacientes. Um terço dos pacientes diabéticos do tipo 1 pode desenvolver gastrite auto-imune, sendo a anemia perniciosa 10 vezes mais comum nesses pacientes que nos indivíduos saudáveis e os tumores carcinóides induzidos pela hipergastrinemia crônica podem se desenvolver em 4-9% dos pacientes com diabetes melito do tipo I, frequência 13 vezes maior que nos indivíduos controles (DE BLOCK, 2004). Em seu estudo sobre gastrite crônica atrófica e lesões carcinóides, Peracchi e cols. (2005) descreveram no grupo de pacientes com gastrite crônica atrófica a ocorrência de doenças auto-imunes concomitantes em 13 pacientes dos 43 voluntários consecutivos sendo oito casos de hipotireoidismo primário, dois casos de *diabetes mellitus*, um caso de hipoparatiroidismo, um de Doença de Addison e um de Síndrome de Sjogren. Auto-anticorpos contra a peroxidase

tireoidiana (anti-TPO) foram detectados em 21 destes pacientes. Grimelius (1977) propôs que a hipergastrinemia poderia ser um fator que levaria ao desenvolvimento do hiperparatireoidismo. Estas observações partiram da observação de que ratos submetidos a exclusão antral evoluíram com resultante aumento das paratireóides duas semanas após o procedimento cirúrgico. Persson-Gagnemo e cols. (1994) observaram que o aumento nas concentrações de gastrina em galinhas tratadas com omeprazol levou não somente ao efeito trófico na mucosa gástrica oxíntica, mas também a hipertrofia e hiperplasia das glândulas paratireóides e a perda óssea, sem afetar as concentrações de cálcio plasmático.

Gastrite atrófica do corpo do estômago, acloridria e auto-anticorpos contra a célula parietal são encontrados em familiares de primeiro grau de pacientes adultos com diagnóstico de anemia perniciosa. Cerca de 20-30% dos parentes em primeiro grau de pacientes com anemia perniciosa têm gastrite crônica atrófica do tipo A. Além disso, esses familiares apresentam freqüência mais alta de auto-anticorpos para antígenos de outras doenças auto-imunes que se correlacionam com a doença de Biermer (GLEESON, 1991; TOH, 1997). Estudos desta natureza põem em evidência o caráter genético responsável pela agregação familiar de gastrite crônica atrófica acentuada do corpo gástrico. A análise da mucosa gástrica dos parentes em primeiro grau dos pacientes com anemia perniciosa revelou que aqueles apresentavam atrofia mais freqüente e precocemente que os controles (VARIS, 1979).

2.4 A Gastrina

Em 1905, Edkins descobriu o secretagogo para a secreção gástrica ácida encontrada na porção antral do estômago, desde então denominada gastrina. A gastrina é produzida normalmente pela célula “G” na mucosa antral ou pilórica. Estas células são encontradas em grande número na mucosa antral humana e em menor quantidade na mucosa do intestino delgado proximal. As células “G” antrais são do tipo abertas, isto é, estão em contato direto com o lúmen antral, de modo que estão expostas ao pH luminal e ao conteúdo alimentar. Subseqüentemente, a gastrina foi isolada e caracterizada por Gregory e Tracy como heptadecapeptídeo (G17). A identificação do resíduo amino terminal ampliou a forma G17 conhecida para outra apresentação consistindo de 34 resíduos de aminoácidos. A forma ativa principal do hormônio é a G17 cuja concentração presente na mucosa antral é 20 vezes superior que a forma G34, enquanto no duodeno humano as duas formas ocorrem em igual proporção. O receptor que sinaliza os efeitos da gastrina é o receptor CCK_B (colecistocinina) que é membro da família proteínas G de receptores transmembrana (VARRO & ARDILL, 2003). Sua principal propriedade biológica é regular a secreção ácida gástrica.

A gastrina estimula a proliferação e a diferenciação das células epiteliais da mucosa gástrica direta ou indiretamente através do estímulo à liberação de outros fatores de crescimento. No rato em desenvolvimento, a gastrina é importante para a maturação da mucosa oxíntica em geral e para o desenvolvimento das células ECL em particular. Todos os efeitos da gastrina sobre as células ECL são mediados pelos receptores CCK_2 . Estudos durante os períodos pré e pós-natal em ratos mostraram que as células ECL aparecem na mucosa oxíntica pouco antes ou logo depois do nascimento. As células “G” aparecem no antro destes animais no momento do nascimento. As células produtoras de gastrina são pouco numerosas durante a primeira

semana pós-natal, mas começam a aumentar em número durante a segunda semana, alcançando o padrão adulto ao desmame. No momento do nascimento e durante as duas primeiras semanas o pâncreas representa fonte adicional de gastrina. Björkqvist e cols. (2002) realizaram importante estudo sobre o comportamento da gastrina em ratos após o nascimento e concluíram que a gastrina não afeta o crescimento da mucosa oxíntica nem das células endócrinas antes do desmame. Após o desmame, a gastrina exerce crucial importância na ativação das células ECL, na regulação da secreção ácida e no crescimento das células ECL e da mucosa gástrica, que, neste período sofre o efeito da gastrina e de outros fatores de crescimento. Sabe-se que em humanos, concentrações plasmáticas elevadas de gastrina estão associadas ao desenvolvimento de tumores gástricos carcinóides derivados das células *enterochromaffin-like* (ECL) e gastrina plasmática elevada em associação à infecção pela bactéria *H. pylori* em humanos e ratos parece estar associada ao aumento do risco de progressão para o câncer gástrico.

Uma das aplicações importantes da dosagem da gastrina sérica está relacionada com o diagnóstico do gastrinoma. Esses tumores podem ser esporádicos ou ocorrerem associados à Neoplasia Endócrina Múltipla do Tipo 1 (NEM 1). A característica que marcadamente diferencia os pacientes com gastrinoma é a presença de hipergastrinemia associada à hipersecreção ácida gástrica. A gastrina pode se elevar moderadamente em pacientes *H. pylori* positivos. Ainda não está claro se a dosagem da gastrina sérica seria útil no manejo clínico desses pacientes, embora seja comumente empregada nos trabalhos de pesquisa. Quando a infecção se instala, inicialmente ocorre inflamação generalizada da mucosa gástrica com diminuição da secreção ácida (hipocloridria) podendo ocorrer elevações da concentração de gastrina. Com a infecção estabelecida, a bactéria localiza-se na mucosa antral, a gastrina sob efeito da inflamação local pode sofrer pequenas elevações e, em certos indivíduos podem

ocorrer aumentos significativos da secreção ácida gástrica o que é mais frequente nos pacientes que desenvolvem úlcera duodenal. Nas situações em que o processo inflamatório se estende à mucosa do corpo gástrico, em alguns pacientes, há tendência de aumento da gastrina sérica com redução da secreção ácida provavelmente pelo efeito de citocinas pró-inflamatórias sobre as células parietais. Estes casos têm potencial progressão da gastrite crônica atrófica *H. pylori* positiva para o câncer gástrico (VARRO & ARDILL, 2003).

A gastrina é um hormônio que exerce efeitos tróficos sobre a mucosa oxíntica humana e sua presença em estágios iniciais do desenvolvimento parece ser um dos fatores associados à maturação das células parietais, células principais e das células endócrinas. Estudos em ratos em estados induzidos de hipergastrinemia mostram que dois anos ou mais de hipergastrinemia estão associados a uma incidência mais alta de ocorrência de tumores de células ECL (carcinóides) na mucosa oxíntica (HÅKANSON, 1993). O desenvolvimento destes tumores é precedido por hiperplasia difusa e micronodular de células ECL e, neste mesmo estudo, observou-se que o aumento na densidade das células ECL se inicia após cerca de duas semanas de hipergastrinemia e que após cinco meses de evolução, o estado de platô é atingido, com progressão mais lenta das taxas de crescimento e multiplicação celular. Este trabalho mostra que, provavelmente, outros fatores interferem na evolução e aparecimento de tumores carcinóides e não apenas o efeito trófico da gastrina. Em outro estudo, Brenna e Waldum (1992) descrevem o efeito dose-resposta dos níveis de gastrina sobre as células ECL em ratos. A gastrina induz o aumento na densidade das células ECL, o aumento na concentração de histamina na mucosa gástrica e o aumento na atividade da histidina descarboxilase de forma dose-dependente. Entretanto, este efeito dose-dependente tem característica polinomial, ou seja, existe um valor máximo a partir do qual o estímulo não é mais efetivo em produzir proliferação excessiva de células endócrinas. A partir deste nível,

torna-se mais importante o tempo de duração da hipergastrinemia do que valores cada vez mais elevados de gastrina para o desenvolvimento de hiperplasias e de tumores carcinóides.

Atualmente, sabe-se que a gastrina através da ligação ao seu receptor CCK desencadeia a ativação de sinais mitogênicos ao núcleo e promove a proliferação celular em ratos e em humanos. Na hipergastrinemia, os carcinóides de células ECL se desenvolvem na seqüência hiperplasia-displasia-neoplasia. Um valor aproximado de três vezes o valor estimado como normal de dosagem sérica da gastrina é necessário para evocar a proliferação das células ECL e o aparecimento de tumores carcinóides. A regressão da hipergastrinemia através da realização de antrectomia ou de tratamento com octreotide leva ao desaparecimento da proliferação das células ECL (BORDI, 1998).

A gastrite atrófica do corpo é a condição patológica que mostra a mais alta freqüência de tumor carcinóide de células ECL em humanos. O tipo de gastrite atrófica associada aos carcinóides de células ECL geralmente apresenta componente auto-imune, com presença de anemia perniciosa, sendo restrita à porção produtora de ácido da mucosa gástrica. A atual incidência dos diferentes tipos de gastrite atrófica associada aos tumores carcinóides de células ECL não é conhecida. Para a gastrite atrófica do tipo auto-imune, a lesão da mucosa por mecanismos auto-ímmunes associada à hipergastrinemia é suficiente para desencadear o surgimento dos tumores carcinóides. A hiperplasia de células ECL nestes pacientes é proporcional ao grau de hipergastrinemia e, aqueles com níveis de gastrina mais elevados, freqüentemente desenvolvem tumores carcinóides (BORCH, 1986; ROZENGURT, 2001).

A presença de células “G” em áreas de metaplasia pseudo-antral na mucosa do corpo sugere que a secreção de gastrina pode ocorrer localmente afetando as células ECL através de

mecanismo parácrino. Trabalho realizado na Turquia por Deveci & Deveci (2004) põe em evidência que a metaplasia de células “G” presentes na mucosa fúndica associada à gastrite atrófica predominante do corpo poderia aumentar o efeito trófico da hipergastrinemia sobre as células ECL nas áreas de metaplasia pseudo-antral, favorecendo a progressão hiperplasia-displasia-neoplasia. Estudo conduzido na Suécia por Magnusson e cols. (1985) já havia demonstrado a produção de gastrina por células em áreas de metaplasia pseudo-antral na mucosa do corpo em pacientes com anemia perniciosa. Nos pacientes de Magnusson a hiperplasia de células “G” na mucosa do corpo e o aumento da gastrina presente na mucosa fúndica detectada por imunofluorescência, embora consideravelmente menor que na mucosa antral, foi maior que em indivíduos controles. Em pacientes com anemia perniciosa sem metaplasia detectável as células “G” não foram encontradas. Esses trabalhos foram importantes por demonstrar na gastrite atrófica de origem auto-imune a produção de gastrina por outra fonte além da mucosa antral ou pilórica.

2.5 A hiperplasia de células ECL

A classificação dos diferentes graus de hiperplasia e neoplasia dos tecidos endócrinos é difícil, porque pressupomos que um esquema para ser utilizado deve indicar fidedignamente o comportamento futuro e o prognóstico da lesão além de ser facilmente reproduzido e empregado no diagnóstico histopatológico na prática de rotina. As lesões endócrinas, entretanto, são difíceis de se classificar porque muitos dos critérios usados para definir alterações neoplásicas e pré-neoplásicas em outros órgãos, quando utilizados para classificar as hiperplasias de células endócrinas do tubo digestivo, apresentam pouco ou nenhum valor prognóstico. O sistema endócrino difuso do estômago apresenta a dificuldade adicional de definir mudanças em um sistema de distribuição de células cuja morfologia pode ser

influenciada pela localização segmento a segmento do tubo digestivo. As células endócrinas na mucosa oxíntica recobrem o corpo e o fundo, são escassas e se apresentam como elementos solitários no epitélio ou nas glândulas gástricas. Encontram-se distribuídas entre numerosas células da porção superior (rico em células parietais) e da porção mais basal (rica em células principais) do epitélio, sendo menos numerosas no colo glandular, raras na região foveolar e ausentes no epitélio superficial. Pequenos aglomerados de células endócrinas podem ocasionalmente ser encontrados em indivíduos normais, dentro ou fora das glândulas.

Segundo Solcia e cols. (1988) as hiperplasias se classificam em simples ou difusa, linear, micronodular e adenomatóide. A hiperplasia simples se caracteriza pelo aumento das células endócrinas superior a duas vezes a variação padrão em relação a controles pareados quanto ao sexo e idade. Morfologicamente, as células hiperplásicas permanecem como elementos solitários nas glândulas ou no máximo formando coleções de quatro células. Localizam-se preferencialmente nas porções mais profundas das glândulas. Trata-se de uma lesão de pouca significância clínica e oncológica. A hiperplasia linear é a condição em que seqüências lineares de cinco ou mais células acompanham a membrana basal das glândulas e, para defini-la, é preciso encontrar uma média de pelo menos duas cadeias por milímetro de mucosa. Esta lesão pode ser focal ou difusa. A hiperplasia micronodular são agrupamentos (“clusters”) de cinco ou mais células endócrinas, não excedendo em diâmetro a glândula gástrica (freqüentemente em torno de 100 μ m, no máximo 150 μ m) encontrado dentro da glândula ou na lâmina própria da mucosa. Estes micronódulos são compostos por células de aparência normal e embora aparentem ser extraglandulares, podemos visualizar delgada membrana basal envolvendo-os. Para definir a hiperplasia como micronodular pelo menos um micronódulo deve ser encontrado por milímetro de mucosa com ou sem a presença de hiperplasia simples e/ou linear. O estágio precoce desta hiperplasia pode ser visualizado nas secções coradas pela

rotina de H.E. A hiperplasia adenomatóide caracteriza-se pela concentração de cinco ou mais micronódulos intimamente aderidos entre si, apesar da interposição da membrana basal. Como regra geral, eles se interpõem mais profundamente na mucosa entre as glândulas e a muscular da mucosa.

De acordo com a doença, pode ocorrer a predominância de um tipo de crescimento de células endócrinas sobre outro. Na Síndrome de Zollinger-Ellison, a hiperplasia linear do tipo difuso é encontrada freqüentemente nas porções profundas da mucosa acompanhada da hiperplasia simples. Na gastrite crônica atrófica, a hiperplasia linear é mais freqüentemente do tipo focal e micronódulos são extremamente freqüentes nas áreas de atrofia glandular, de esclerose e de regeneração epitelial. A diferenciação de hiperplasia micronodular com ou sem modelo adenomatóide das lesões displásicas ou neoplásicas é de fundamental importância. Hiperplasia micronodular pode ser encontrada em 30% dos pacientes com gastrite atrófica do tipo A, hipergastrinemia e anemia perniciosa, enquanto somente 6% dos pacientes apresentam doença neoplásica. Atualmente, o diâmetro de 150 μ m é o ponto de corte para separar nódulos hiperplásicos de displásicos. Este valor, abaixo do diâmetro das glândulas gástricas, é usado como índice para referência nas análises das preparações histológicas (SOLCIA, 1988).

Estudo de Belaiche e cols. (1993) concluiu que a coloração pela prata e estudos imunocitoquímicos para Cromogranina A são métodos adequados para demonstrar a hiperplasia de células argirófilas na mucosa oxíntica na prática clínica. De acordo com estes autores, a hiperplasia de células endócrinas dos tecidos foi classificada em cinco graus: (0) ausência de hiperplasia, (1) hiperplasia endócrina leve, presença de duas ou três cadeias de hiperplasia linear, (2) hiperplasia endócrina moderada, presença de hiperplasia linear e de um micronódulo, (3) hiperplasia endócrina acentuada, presença de mais de três micronódulos, (4)

presença de hiperplasia e tumor carcinóide. Este estudo demonstrou que imunocitoquímica para Cromogranina A (glicoproteína ácida que compõe os grânulos de secreção) é comparada ao método de Grimelius para definição dos pacientes com risco de desenvolver tumor carcinóide ao comparar o grau de gastrite, o nível sérico de gastrina e o grau de hiperplasia endócrina. Este estudo, entretanto, não foi suficiente para avaliar a evolução temporal das alterações hiperplásicas.

Delle Fave e cols. (2002) estudando a progressão do crescimento das células *enterochromaffin-like* em pacientes com a Síndrome de Zollinger-Ellison e sua relação com diferentes graus de gastrinemia agruparam os tipos de hiperplasias em três categorias: (1) Normal-SH: pacientes com mucosa normal ou que apresentassem apenas hiperplasia simples, (2) LH: composta por pacientes que apresentassem hiperplasia simples e hiperplasia linear, (3) MH: pacientes com hiperplasia simples, linear e micronodular. Os resultados do trabalho mostram que o crescimento/ progressão hiperplasia- displasia- neoplasia em humanos requer aumento dos níveis séricos de gastrina e/ou exposição prolongada a graus acentuados de hipergastrinemia.

Existem vários métodos de quantificação celular que podem ser empregados no estudo das células *enterochromaffin-like* da mucosa fúndica gástrica em estados de hipergastrinemia. A quantificação numérica pode ser feita utilizando-se ocular milimetrada, observando-se apenas as células nucleadas e a contagem deve ser efetuada abrangendo preferencialmente toda a espessura da mucosa, da muscular da mucosa ao epitélio de revestimento. A contagem celular por este método pode ser expressa por campo visual. A quantificação volumétrica permite estimar a porcentagem de volume da mucosa ocupado pelas células argirófilas com relação ao volume da mucosa ocupado pela totalidade das células epiteliais ou do volume total da

mucosa. Há duas maneiras correspondentes de se realizar a quantificação volumétrica: (a) morfometria, (b) planimetria. Com relação à análise das hiperplasias das células endócrinas, estas técnicas apresentam a vantagem de permitir a quantificação do volume celular apesar da dificuldade de individualização das células endócrinas localizadas nos “ninhos” ou “clusters” de proliferação celular. A planimetria pode substituir com vantagem a quantificação individual nos estudos de correlação. Na gastrite crônica atrófica da mucosa do corpo, o número de nódulos endócrinos observados estima a importância do grau da hiperplasia e a análise quantitativa deve ser complementada com a pesquisa atenta de sinais de displasia. (CADIOT, 1991).

Na gastrite crônica atrófica da mucosa do corpo, a quantificação individual das células argirófilas é difícil, já que as células se organizam estruturalmente formando “ninhos” ou micronódulos de células endócrinas. Essa dificuldade é acentuada pelas alterações nos componentes da mucosa gástrica induzidas pela presença de atrofia. A redução da massa epitelial pelo desaparecimento progressivo dos elementos epiteliais diferenciados e a substituição das glândulas gástricas provocam um acúmulo de células endócrinas hiperplásicas agrupadas em anéis ou em “clusters”. Por outro lado, as glândulas gástricas rarefeitas são interpostas por territórios de metaplasia intestinal, acentuando a irregularidade de distribuição das células endócrinas, complicando ainda mais a avaliação quantitativa, particularmente em amostras de biópsias. Assim, na gastrite crônica atrófica da mucosa do corpo, a classificação de Solcia e cols. (1988) é a mais frequentemente utilizada para análise das hiperplasias de células endócrinas e a quantificação celular não é imprescindível para se afirmar a existência de hiperplasia endócrina (CADIOT, 1991).

OBJETIVOS

O presente estudo visa conhecer, em pacientes dispépticos submetidos à endoscopia digestiva e com diagnóstico histopatológico final de gastrite crônica atrófica predominante do corpo, os seguintes parâmetros:

- (a) A frequência de associação entre gastrite crônica atrófica predominante do corpo e presença de auto-imunidade;
- (b) Relacionar os graus de atrofia da mucosa gástrica com a presença e o tipo de hiperplasia das células endócrinas;
- (c) Relacionar os graus de atrofia da mucosa gástrica com os níveis séricos de gastrina;
- (d) Estudar a presença e os tipos de hiperplasia de células endócrinas e suas relações com a presença de auto-imunidade;
- (e) Estudar a presença e os tipos de hiperplasia de células endócrinas e suas relações com os níveis séricos de gastrina;
- (f) Verificar a possível relação do *Helicobacter pylori* com as alterações acima descritas.

MATERIAL E MÉTODO

4.1 Seleção dos pacientes

A seleção dos pacientes foi retrospectiva e prospectiva feita a partir dos arquivos de laudos do setor de Anatomia Patológica do Instituto Alfa de Gastroenterologia – Hospital das Clínicas da UFMG. Foram selecionados 194 casos de pacientes que realizaram endoscopia digestiva alta com biópsias gástricas do antro e do corpo, entre os anos de 2004 a 2006 e que apresentavam gastrite crônica com graus variáveis de atrofia do corpo gástrico e mucosa antral normal ou apenas com alterações inflamatórias discretas. As lâminas coradas pelo H.E. de cada paciente foram recuperadas do arquivo do laboratório para reavaliação por um único observador. Todos os casos de gastrite crônica do corpo ou predominante do corpo com graus variáveis de atrofia glandular, com ou sem infecção pelo *Helicobacter pylori*, foram selecionados. Os pacientes portadores de doença neoplásica gástrica, úlcera péptica gastroduodenal, doença inflamatória intestinal, insuficiência renal crônica foram excluídos. O delineamento do estudo foi transversal.

Os pacientes foram localizados através das informações dos registros do setor de marcação de consultas do Instituto Alfa de Gastroenterologia e do SAME (Serviço de Arquivo Médico e Estatística) do Hospital das Clínicas da UFMG. Os pacientes foram convidados a comparecer a uma entrevista realizada no 5º andar do Hospital Bias Fortes para esclarecimento dos objetivos da pesquisa e para consentimento voluntário de participação. Todos estes procedimentos estavam de acordo com a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG durante sua realização (COEP nº 479/04 de 15/12/2004) e da Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas da UFMG (DEPE nº 01/05 de 19/05/2005).

4.2 Estudo da mucosa gástrica

4.2.1 Colorações para estudo histológico da mucosa gástrica

O estudo histológico da mucosa gástrica foi realizado em cortes histológicos de 4µm de espessura provenientes das amostras de biópsias endoscópicas do Instituto Alfa de Gastroenterologia, fixadas em formaldeído a 4% e incluído em parafina como de rotina. As colorações histológicas realizadas foram: (1) Hematoxilina-Eosina (H.E.) para análise histopatológica; (2) Giemsa e/ou carbofucsina, para pesquisa do *Helicobacter pylori* no tecido; (3) Grimelius, para evidenciar as células endócrinas com afinidade pela prata (células argirófilas); (3) Imunocitoquímica, para evidenciar as células parietais.

As colorações pelo H.E., Giemsa e/ou carbofucsina foram feitas na seqüência de rotinas do Laboratório de Patologia do Instituto Alfa de Gastroenterologia. A técnica de Grimelius para células argirófilas (GRIMELIUS, 1968) foi realizada no Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina. A vidraria utilizada para a coloração foi lavada em água corrente durante uma hora e, antes do uso, lavada em água destilada (água miliqué). Os cortes histológicos foram desparafinizados e hidratados. As cubas com tampa, com capacidade para 10 lâminas, foram colocadas em banho-maria e as lâminas incubadas a 60° C em solução de prata (80 –84 mg de AgNO₃ Merck, 10mL de tampão acetato 0,2 M e 90mL água destilada). Após três horas de incubação, as lâminas eram transferidas duas a duas para a segunda cuba, onde permaneciam por dois minutos mergulhadas na solução reveladora (1g de Hidroquinona C₆H₆O₂, 5g de Sulfito de Sódio Anidro Na₂SO₃, Merck e 100mL de água destilada). Foi realizado controle microscópico da positividade do método para coloração das células endócrinas ao final da reação através da análise do controle para o qual foi utilizado a mucosa oxíntica de rato. Os cortes foram re-hidratados e montados com lamínula e bálsamo do Canadá.

A coloração imunocitoquímica para células parietais utilizada foi a peroxidase anti-peroxidase (PAP). Os cortes histológicos após desparafinização e um banho em PBS de cinco minutos foram mergulhados em solução contendo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 30 vv e 100mL de tampão fosfato (PBS) durante 30 minutos para bloqueio da peroxidase endógena. Para bloqueio dos sítios antigênicos inespecíficos nos cortes histológicos foi utilizado soro normal de coelho (1:50), e, a seguir, as lâminas foram incubadas em câmara úmida à temperatura ambiente durante 30 minutos. O anticorpo específico para células parietais utilizado foi o anticorpo monoclonal contra célula parietal denominado 5H₇H₈ (1:5). Este anticorpo monoclonal mostrou ser específico para células parietais na espécie humana e em diversos mamíferos estudados (FERREIRA, 1999). Após incubação *overnight* por 16 horas a 4° C e três banhos de PBS com duração de cinco minutos cada, o anticorpo revelador (*Dako*, Denmark) coelho anti-camundongo conjugado com peroxidase (1:100) foi adicionado aos cortes histológicos com incubação das lâminas em câmara úmida à temperatura ambiente por 30 minutos. A solução reveladora foi preparada utilizando-se 25mg de DAB, 100mL de PBS e 250 μ L de peróxido de hidrogênio a 40 vv. Após cinco minutos na solução reveladora, as lâminas foram lavadas em PBS, contra-coradas com Hematoxilina diluída, hidratadas e montadas com lamínula e bálsamo do Canadá. Durante a realização dos cortes histológicos, as lâminas confeccionadas foram armazenadas com o cuidado especial de serem previamente banhadas em parafina e guardadas a -70°C. Tanto para a coloração pelo Grimelius quanto para a coloração imunocitoquímica para células parietais a mucosa oxíntica de rato foi utilizada como controle.

4.2.2 Análise histopatológica pelo HE

Os cortes histológicos do antro e corpo gástricos corados pelo H.E. foram reavaliados quanto aos graus de inflamação, presença de atividade inflamatória, atrofia glandular, presença e grau de metaplasia intestinal e de metaplasia pseudo-antral. Os seguintes itens de cada lâmina foram anotados: (a) gastrite crônica atrófica predominante do corpo com atrofia leve, moderada ou acentuada; (b) presença de folículos linfóides; (c) metaplasia intestinal leve, moderada ou acentuada; (d) metaplasia pseudo-antral leve, moderada ou acentuada.

No corpo gástrico, a atrofia leve foi definida como perda de glândulas oxínticas equivalente ao 1/3 superficial da mucosa. A rarefação glandular mais evidente, com perda de glândulas oxínticas abrangendo 2/3 da mucosa examinada, até o colo glandular e com diminuição no número de células parietais foi considerada como atrofia moderada. A atrofia acentuada foi definida como perda de todo ou quase todo componente de glândulas oxínticas, atingindo toda a espessura da mucosa e adelgaçamento da mucosa oxíntica. No antro, atrofia leve foi definida como discreta rarefação das glândulas antrais. Atrofia moderada foi definida como rarefação um pouco mais evidente das glândulas antrais e atrofia acentuada como raras glândulas antrais e adelgaçamento da mucosa antral.

A presença de atividade inflamatória foi graduada em ausente, discreta, moderada ou acentuada nas mucosas antral e oxíntica (DIXON, 1996) de acordo com a presença de número escasso de polimorfonucleares na lâmina própria (grau discreto) ou numerosos polimorfonucleares na lâmina própria com freqüentes infiltrações da parede glandular (grau acentuado). Os casos intermediários foram classificados como “atividade moderada”.

A presença de metaplasia pseudo-antral foi definida como aglomerados de células mucosas típicas do epitélio de revestimento na intimidade da lâmina própria, assemelhando-se na sua distribuição às glândulas pilóricas sendo graduada em leve, moderada ou acentuada, conforme o número destas glândulas. O mesmo procedimento aplicou-se em relação à presença de glândulas intestinais metaplásicas.

As células endócrinas que ao exame pelo H. E. deixavam transparecer pequenos ninhos de células com aspecto de aglomerados de células endócrinas entre as glândulas fúndicas foram também analisadas e a sua presença descrita como provável hiperplasia micronodular. Todos os cortes histológicos foram subseqüentemente corados pelo método da prata (Grimelius) para células endócrinas para avaliação da presença desta hiperplasia micronodular.

4.2.3 Análise imunocitoquímica das células parietais

A análise imunocitoquímica consistiu na avaliação da presença ou ausência das células parietais nas preparações histológicas com coloração específica utilizando-se anticorpo monoclonal específico para os canalículos secretores destas células. A distribuição das células parietais foi descrita como: a) presentes, numerosas; b) presentes, pequenos aglomerados; c) presentes, raras; d) ausentes. Para efeito de comparação, pelas semelhanças de apresentação, as classificações pequenos aglomerados/raras foram agrupadas.

4.2.4 Análise histopatológica das células endócrinas

Procedeu-se à análise histológica das preparações coradas pelo método de Grimelius para se examinar o comportamento da população de células endócrinas (argirófilas) ao longo das mucosas antral e oxíntica. Hiperplasia foi definida como aumento do número das células argirófilas, com expansão do compartimento ocupado por estas células nas glândulas antrais e do corpo e/ou presença de “clusters”, ninhos de células endócrinas na mucosa antral e/ou

oxíntica (LECHAGO, 1994). Estas alterações foram avaliadas nas biópsias do antro e do corpo de cada paciente. Em média 160 amostras de biópsias foram analisadas quanto ao comportamento das células endócrinas da mucosa gástrica.

As hiperplasias de células endócrinas foram assim classificadas: (a) normal: ausência de hiperplasia; (b) hiperplasia simples ou difusa: aumento na quantidade de células endócrinas duas vezes mais que a mucosa normal; (c) hiperplasia linear: presença de seqüências lineares de cinco ou mais células em cadeia ou pelo menos duas cadeias de células endócrinas /mm de mucosa; (d) hiperplasia micronodular: “*cluster*” de cinco ou mais células argirófilas ou presença de um micronódulo/mm de mucosa; (e) hiperplasia adenomatóide: presença de células endócrinas ao longo de toda a circunferência da estrutura glandular quando observada ao corte transversal em detrimento da presença de células parietais e principais.

Para efeito de comparação e análise dos diferentes grupos de hiperplasia endócrina, utilizou-se a classificação de Delle Fave e cols. (2002) modificada considerando os seguintes tipos: (a) normal, (b) SH/LH: pacientes que apresentassem apenas hiperplasia simples e linear, (c) MH: pacientes com hiperplasia simples, linear e micronodular (d) AH: pacientes que apresentassem todas as anteriores associadas à hiperplasia adenomatóide.

4. 2.5 Infecção pelo *Helicobacter pylori*

A infecção pelo *H. pylori* na mucosa gástrica dos pacientes foi avaliada através da análise histológica das lâminas coradas pelo Giemsa e/ou carbolfucsina.

4.3 Exames Laboratoriais

Uma amostra de sangue venoso dos pacientes incluídos no estudo foi colhida para realização do hemograma com hematoscopia, avaliação da presença de auto-anticorpo contra a célula parietal (anti-CP), dosagens séricas de gastrina e de vitamina B₁₂. A coleta do exame de sangue dos pacientes foi realizada no Instituto Hermes Pardini, Unidade Funcionários, obedecendo ao jejum de 10 horas. O hemograma completo foi realizado por contagem automatizada através de citometria de fluxo e realizada hematoscopia em todas as amostras. A análise da presença do auto-anticorpo anti-CP foi realizada em todos os pacientes pelo método de imunofluorescência indireta (DTS, África do Sul). Os resultados foram descritos como reagente (positivo) ou não-reagente (negativo). Para dosagem da gastrina utilizou-se o método do radioimunoensaio (I¹²⁵, contador gamma - Wizard). Os valores de referência usados para a gastrina foram os definidos pelo fabricante: a) valores normais: menores que 108 pg/mL, b) valores intermediários: entre 109 – 230 pg/mL, c) valores elevados ou patológicos: acima de 231 pg/mL. Para efeito de comparação foram consideradas apenas duas categorias: (a) valores menores que 108pg/mL e (b) valores maiores que 109pg/mL. A dosagem da vitamina B₁₂ foi realizada pelo método da quimioluminescência (éster de acridínio, Aouia Centaur). Os valores de referência para a vitamina B₁₂ foram definidos pelo fabricante: a) valores normais: entre 200 e 950 pg/mL, b) valores baixos: inferiores a 120 pg/mL.

4.4 Análise Estatística

Os dados foram compilados no programa Epi Info versão 3.2.2 (2004). Para a comparação entre proporções foi empregado o Teste do Qui-quadrado e quando necessário (valor esperado menor que cinco em uma casela) foi empregado o Teste Exato de Fisher. Para comparação entre médias foi empregado análise de variância. Foi considerado valor de $p < 0,05$ como limiar de significância estatística.

RESULTADOS

5.1 Descrição dos pacientes

Entre os diagnósticos histopatológicos selecionados de gastrite atrófica predominante do corpo do Serviço de Patologia do Instituto Alfa de Gastroenterologia recuperamos 44 pacientes que aceitaram participar do estudo. Cada paciente apresentava em média duas biópsias da mucosa antral e duas biópsias da mucosa oxíntica. Distribuíam-se quanto ao sexo em 34 mulheres (77,3%) e 10 homens (22,7%) com média de idade de 54 anos (26- 76 anos). Pacientes de cor parda predominaram na população estudada 43,2% (19/44,), sendo 36,4% (16/44) e 20,5% (9/44), a frequência de brancos e pretos, respectivamente. Os pacientes foram provenientes de Belo Horizonte (78,6%) e de cidades vizinhas (Contagem, Ibirité, Esmeraldas, Betim, Ribeirão das Neves), 34,2% desempenhavam a função do lar como ocupação. Queixas dispépticas estavam presentes em 59,1% dos pacientes. O principal sintoma dispéptico presente foi a pirose (27,3%) e, em ordem de frequência das queixas, vêm em seguida o empachamento (22,7%), boca seca (20,5%), náuseas (11,4%), dor abdominal (6,8%), hiporexia (2,3%). Outras doenças frequentemente encontradas na história clínica dos pacientes no momento da inclusão na pesquisa foram a hipertensão arterial sistêmica (34,1%), depressão (29,5%), hipotireoidismo (22,7%), anemia ferropriva (20,5%), dislipidemia (11,4%), anemia falciforme (9,1%), diabetes tipo II (6,8%). Dois pacientes apresentavam história de doença diverticular e dois, diagnóstico de obesidade (IMC= 42 e 36). Menos frequentemente encontramos os seguintes diagnósticos: disfagia idiopática (1), carcinoma basocelular (1), arritmia (1), transplante hepático progressivo (1), seqüela de acidente vascular cerebral (1), história progressiva de pancreatite (1), ovários policísticos (1), epilepsia (1) e história progressiva de câncer de mama (1). A história de doença auto-imune progressiva ocorreu

em 20,5% dos casos: Tireoidite de Hashimoto (9,1%), vitiligo (4,5%), hepatite auto-imune (2,3%), esclerodermia sistêmica (2,3%), arterite de Takayasu (2,3%). A análise de exames progressos de 23 pacientes mostrou que a média de nível sérico de vitamina B₁₂ foi 236pg/mL, sendo menor que 120pg/mL em cinco casos (21,7%), apresentando-se entre 120-199pg/mL em seis casos (26%) e maior que 200pg/mL em 12 casos (52%). Os níveis de folato sérico encontrados estavam entre 3-17 mg/dL. A análise dos prontuários mostrou que 25% (11/44) dos pacientes apresentaram deficiência de vitamina B₁₂, com níveis de folato normais, anemia megaloblástica e/ou sinais e sintomas neurológicos associados à atrofia acentuada da mucosa do corpo gástrico. A ocorrência isolada de sinais e sintomas neurológicos como ataxia, parestesias, deficiências sensitivas esteve presente em 11,4% (5/44) dos casos. Estes pacientes usavam regularmente vitamina B₁₂ parenteral. O tempo médio entre o momento do diagnóstico da gastrite atrófica e a data de inclusão no estudo foi de 3 anos. Entre os medicamentos usados à inclusão na pesquisa encontramos o uso parenteral da vitamina B₁₂ como o mais freqüente (48,8%), anti-hipertensivos (36,4%), antidepressivos (25%), hormônio tireoidiano (22,7%), hipolipemiante (9,1%), uso esporádico de omeprazol (6,8%), ranitidina (6,8%) e domperidona (4,5%), hipoglicemiante oral (4,5%), corticóide (4,5%), imunossupressor (4,5%).

5.2 Descrição da Mucosa Gástrica

5.2.1 Endoscopia

A endoscopia mostrou mucosa gástrica sem alterações em seis pacientes (13,6%), gastrite antral em três pacientes (6,8%), pangastrite sem sinais de atrofia do corpo em 10 casos (22,7%), pangastrite com atrofia da mucosa do corpo em 22 casos (50%) e gastrite atrófica

predominante do corpo em três casos (6,8%). Os pólipos gástricos foram encontrados em oito pacientes, entre eles, dois constituídos por tumor carcinóide.

5.2.2 Diagnóstico histopatológico pelo H.E.

Os diagnósticos histopatológicos da mucosa gástrica, constantes nas papeletas, de cada paciente foram os seguintes: (a) 31 (70,4%) pacientes apresentaram gastrite atrófica predominante do corpo, (b) 13 (29,6%) pacientes apresentaram pangastrite crônica (gastrite crônica multifocal) predominante do corpo. A análise histológica pelo método H.E. mostrou:

- a) Atrofia na mucosa do corpo: atrofia leve em um caso (2,3%), moderada em oito casos (18,6%), acentuada em 35/44 casos (79,5%). A FIG. 1 exemplifica um dos casos selecionados apresentando atrofia acentuada da mucosa oxíntica (H. E.).
- b) Inflamação na mucosa do corpo: infiltrado inflamatório leve na mucosa do corpo foi encontrado em amostras de biópsias de 15 (34,1%) pacientes, moderado em 23 (52,3%) casos e acentuado em seis casos (13,6%). A presença freqüente de polimorfonucleares neutrófilos foi observada em 11 (25%) pacientes. Folículos linfóides presentes na mucosa do corpo gástrico foram encontrados em 25 (56,8%) casos.
- c) Metaplasia Intestinal na mucosa do corpo: foi encontrada em 26 (59%) casos analisados, sendo a intensidade leve em 12 (27,3%) casos, moderada em nove casos (20,5%) e acentuada em cinco (11,4%). A ocorrência de metaplasia intestinal em graus leve, moderado ou acentuado foi mais freqüente entre os pacientes que apresentavam atrofia acentuada da mucosa oxíntica do que entre o grupo com atrofia em intensidades leve e moderada, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa conforme demonstra a TAB. 1.

TABELA 1 – Relação entre a presença de metaplasia intestinal (MI) e o grau de atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias de 44 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Grau de atrofia da mucosa oxíntica (H.E.)	Metaplasia Intestinal (MI)		
	Presente (nº de casos)	Ausente (nº de casos)	Total de pacientes
Atrofia Leve/ Moderada	3 (11,5%)	6 (33,4%)	9
Atrofia Acentuada	23 (88,4%)	12 (66,6%)	35
Total	26 (100%)	18 (100%)	44

H. E.: Hematoxilina-Eosina, MI: metaplasia intestinal. Fisher, p = 0,1284.

d) Metaplasia Pseudo-antral na mucosa do corpo: foi encontrada 39 (88,6%) casos analisados sendo de intensidade leve em 20 casos (45,5%), moderada em 14 (31,8%) e acentuada em 5 casos (11,4%). Assim como a metaplasia intestinal, a metaplasia pseudo-antral foi mais freqüente entre os pacientes com atrofia acentuada da mucosa oxíntica, porém esta maior freqüência não foi significativamente maior que o grupo que apresentou atrofia leve/moderada da mucosa (TAB. 2).

TABELA 2 – Relação entre a presença de metaplasia pseudo-antral (MPSA) e o grau de atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias de 44 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Grau de atrofia da mucosa oxíntica (H.E.)	Metaplasia Pseudo-antral (MPSA)		
	Presente (nº de casos)	Ausente (nº de casos)	Total de pacientes
Atrofia Leve/ Moderada	8 (20,5%)	1 (20%)	9
Atrofia Acentuada	31 (79,4%)	4 (80%)	35
Total	39 (100%)	5 (100%)	44

H. E.: Hematoxilina-Eosina, MPSA: metaplasia pseudo-antral. Fisher, p = 1,000.

- e) Glândulas oxínticas remanescentes: glândulas oxínticas remanescentes foram identificadas em 33 (78,6%) casos examinados pelo H.E. e apenas em 19 (44%) casos corados pela imunocitoquímica.
- f) Alterações sugestivas de hiperplasia micronodular de células endócrinas pelo H.E. na mucosa do corpo foi observada em 14 (31,8%) pacientes. Nas preparações coradas pelo Grimelius, a hiperplasia micronodular foi observada em 23 (54,7%) pacientes entre os 42 casos nos quais esta coloração foi possível de ser realizada.
- g) Mucosa antral: a mucosa do antro apresentou-se sem alterações histológicas em 27 (61,4%) casos analisados. A alteração mais freqüente foi o infiltrado inflamatório de intensidade leve, encontrado em 13 (29,5%) casos examinados. Atrofia leve da mucosa antral foi encontrada em quatro (9,3%) casos e a metaplasia intestinal em apenas um caso, em grau moderado. A FIG. 2 mostra mucosa antral normal e mucosa oxíntica atrófica com substituição das glândulas oxínticas por metaplasia intestinal e pseudo-antral coradas pelo método H. E.

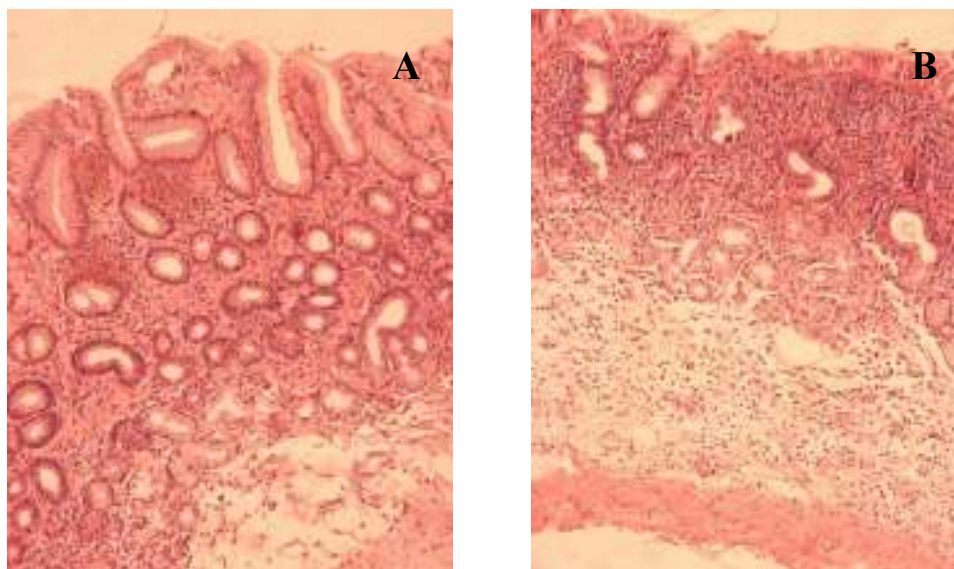


FIGURA 1 – (A) Mucosa gástrica antral sem alterações histológicas relevantes e (B) Mucosa oxíntica com atrofia acentuada. Paciente MML, 73 anos, sexo feminino, anticorpo anti-CP negativo, *H. pylori* negativo, apresentando GC atrófica predominante do corpo.

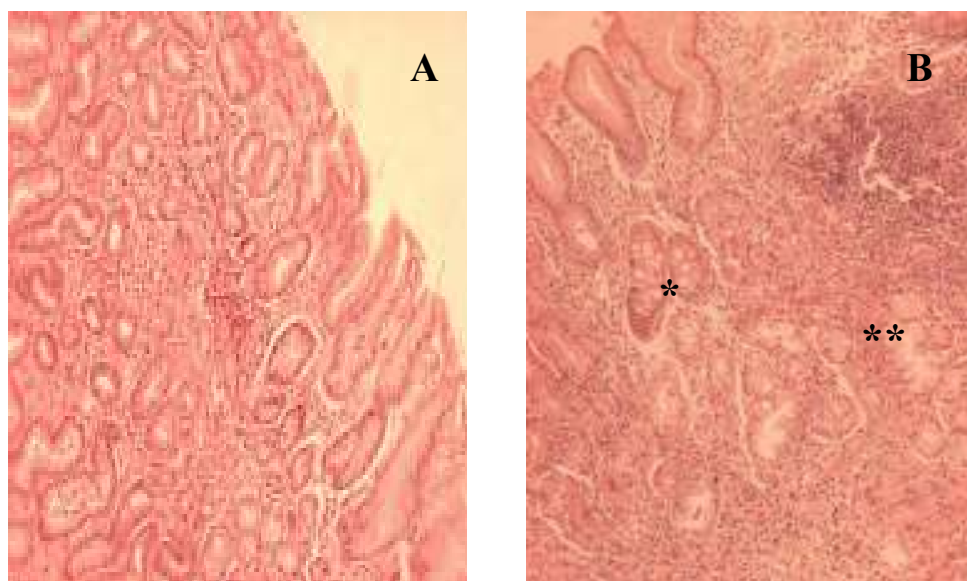


FIGURA 2 – (A) Mucosa antral normal. (B) Mucosa oxíntica com atrofia acentuada, substituição das glândulas oxínticas por metaplasia intestinal (*) e metaplasia pseudo-antral (**). Acima, à direita, folículo linfóide. Paciente IRS, 74 anos, sexo feminino, anticorpo anti-CP positivo, *H. pylori* negativo, apresentando GC atrófica predominante do corpo.

5.2.3 Análise imunocitoquímica das células parietais

A imunocitoquímica mostrou distribuição freqüente de células parietais em 3 (6,9%) casos, agrupamento de células parietais em pequenos aglomerados em 8 (18,6%) casos, presença de raras células parietais em 8 (18,6%) casos e ausentes em 24 (55,8%) casos. A FIG. 3 mostra células parietais distribuídas em pequenos aglomerados e rarefeitas na mucosa. A FIG. 4 mostra células parietais relativamente freqüentes em paciente de 70 anos com atrofia moderada da mucosa oxíntica que se apresentou não- reigente para o auto-anticorpo contra a célula parietal.

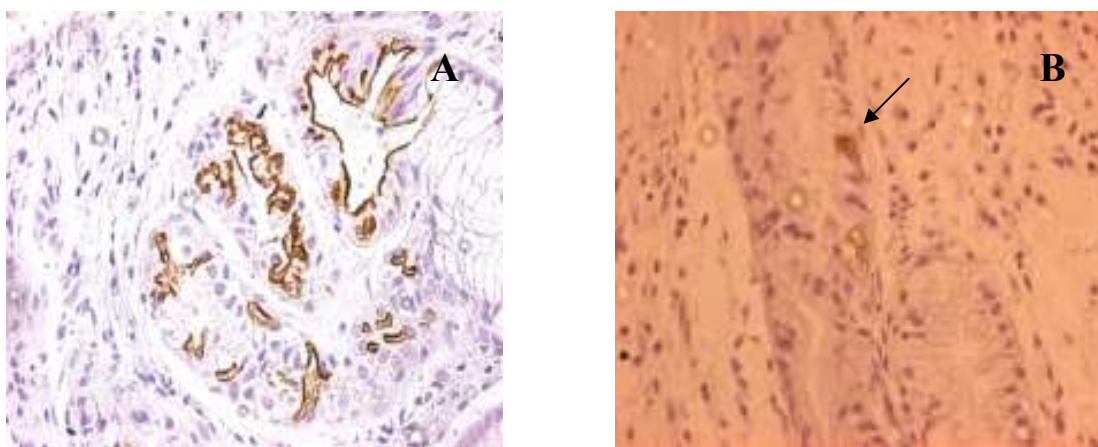


FIGURA – 3 (A) Células parietais distribuídas em pequenos aglomerados, coradas pelo método imunocitoquímico utilizando anticorpo monoclonal C₅H₇ específico para os canálculos secretores das células parietais, em paciente com atrofia acentuada da mucosa oxíntica e diagnóstico de gastrite atrófica auto-imune (400x). (B) Células parietais raras na mucosa oxíntica de paciente com atrofia acentuada da mucosa do corpo gástrico (SETA).

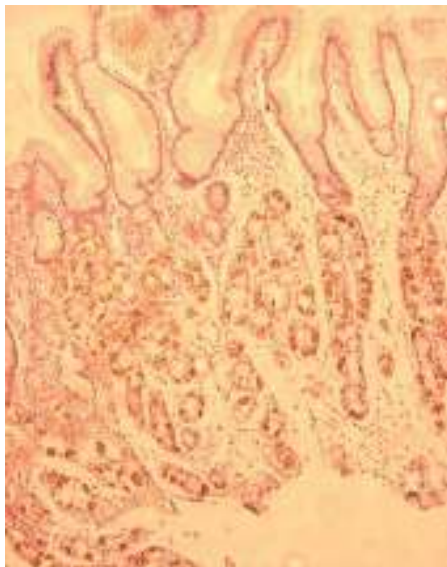


FIGURA – 4 Células parietais relativamente freqüentes em paciente com atrofia moderada da mucosa gástrica oxíntica e auto-anticorpo contra célula parietal negativo (200x).

5.2.4 Análise histopatológica das células endócrinas

A análise da distribuição das células endócrinas quanto à frequência e ao tipo das hiperplasias encontradas nas amostras da mucosa do antro e da mucosa do corpo pelo método da prata mostrou que a hiperplasia das células endócrinas foi mais frequentemente encontrada na mucosa do corpo gástrico. A hiperplasia de células endócrinas na mucosa oxíntica foi mais frequente entre os pacientes que apresentavam intensidade acentuada da atrofia, entretanto esta associação não foi estatisticamente significativa como demonstrado na TAB. 3.

TABELA 3 – Relação entre a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica de 42 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo (H.E.) e a presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas na mucosa oxíntica.

Grau de atrofia da mucosa oxíntica (H.E.)	Hiperplasia C.E. (mucosa oxíntica)		
	Presente	Ausente	Total de pacientes
Atrofia Leve/ Moderada	5 (14,2%)	3 (42,8%)	8
Atrofia Acentuada	30 (85,7%)	4 (57,1%)	34
Total	35 (100%)	7 (100%)	42

H. E.: Hematoxilina-Eosina, C.E.: células endócrinas; Fisher, $p = 0,1129$. Nota: não foi possível analisar a hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica em dois casos.

Na mucosa do corpo as hiperplasias encontradas foram a hiperplasia simples (35 casos, 83,3%), linear (33 casos, 78,5%), micronodular (23 casos, 54,7%) e adenomatóide (13 casos, 30,9%). Foi encontrada maior frequência de hiperplasia micronodular e adenomatóide entre os pacientes com atrofia acentuada da mucosa oxíntica (TAB. 4).

TABELA 4 – Relação entre a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica de 42 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo (H.E.) e o tipo de hiperplasia de células endócrinas argirófilas na mucosa oxíntica.

Grau de atrofia da mucosa oxíntica (H.E.)	Tipos de Hiperplasia C.E. (mucosa oxíntica)			Total de pacientes
	SH/ LH (nº de casos)	MH/ AH (nº de casos)	Ausente (nº de casos)	
Atrofia Leve/ Moderada	4 (33,3%)	1 (4,3%)	3 (42,8%)	8
Atrofia Acentuada	8 (66,6%)	22 (95,6%)	4 (57,1%)	34
Total	12 (100%)	23 (100%)	7 (100%)	42

H. E.: Hematoxilina-Eosina, C.E.: células endócrinas. $p = 0,025 (\chi^2)$.

Na mucosa antral, a hiperplasia das células endócrinas argirófilas foi encontrada em oito (19%) casos. No antro predominaram a hiperplasia do tipo simples (oito casos, 19%) e linear (cinco casos, 11,9%). Os tipos de hiperplasia de células endócrinas das mucosas antral e oxíntica estão ilustrados nas FIG. 5-8.

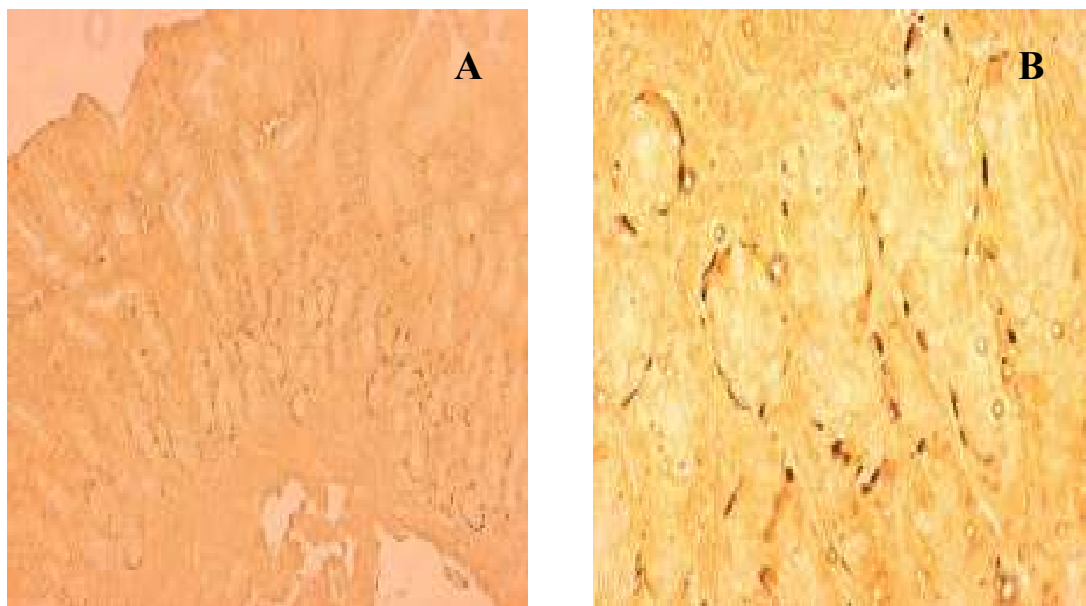


FIGURA – 5 (A) Mucosa antral do paciente CHSS apresentando hiperplasia difusa e linear de células endócrinas coradas pelo método de Grimelius. (B) Detalhe da hiperplasia das células endócrinas da mucosa antral (400x). Gastrina sérica do paciente: 715 pg/mL.

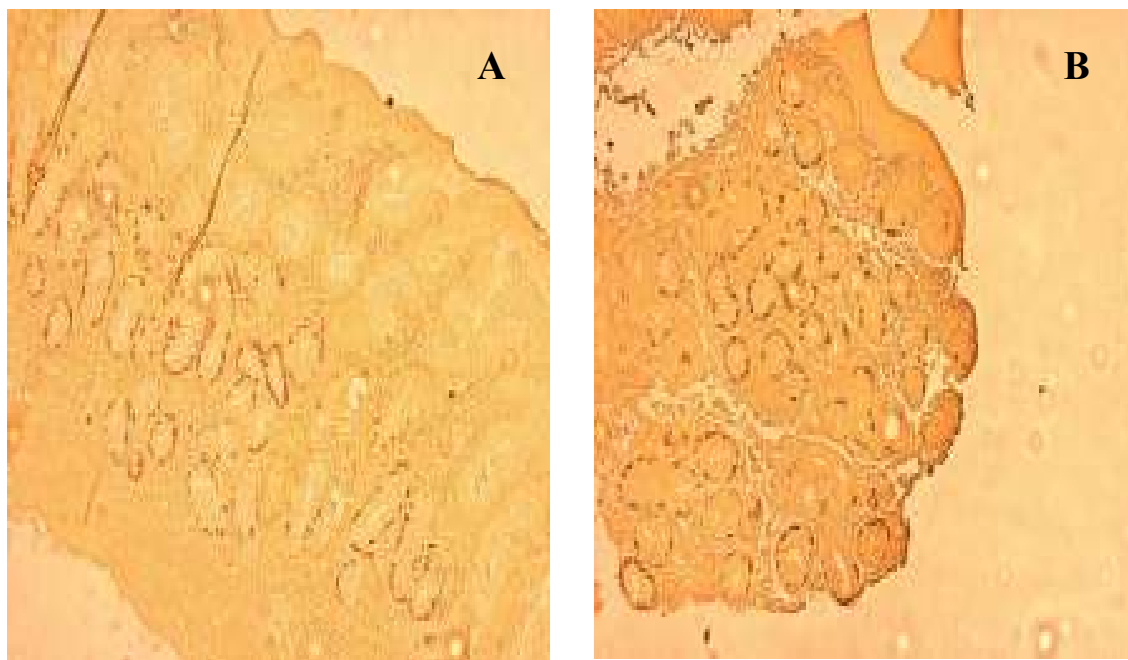


FIGURA – 6 (A e B) Mucosa oxíntica do mesmo paciente da figura anterior (CHSS). Hiperplasia difusa, linear e adenomatóide de células endócrinas coradas pelo método de Grimelius. Hiperplasia adenomatóide: células endócrinas ao longo da circunferência da estrutura glandular em corte transversal em detrimento da presença de células parietais e principais.

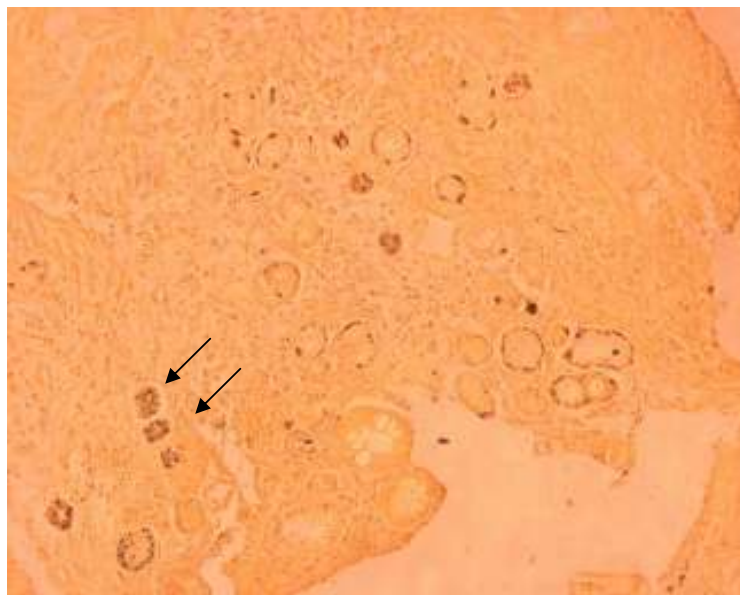


FIGURA – 7. Hiperplasia micronodular de células endócrinas (setas) e presença concomitante de hiperplasias difusa, linear e adenomatóide em mucosa oxíntica de paciente do sexo feminino, 64 anos, gastrina sérica de 161 pg/mL, diagnóstico de anemia perniciosa.

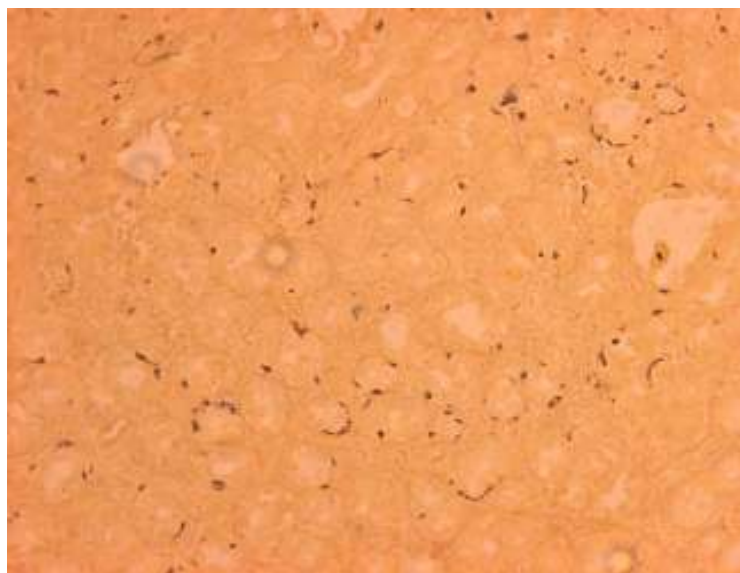


FIGURA – 8. Hiperplasia difusa de células endócrinas em mucosa oxíntica da paciente descrita na Figura 7 (400x).

5.3 Exames Laboratoriais

5.3.1 Gastrina sérica

A média da gastrina sérica entre os pacientes foi 349,5 pg/mL (41,4 pg/mL - 2.720 pg/mL). A TAB. 5 e a TAB. 6 discriminam o número de pacientes que apresentaram aumento dos níveis de gastrina sérica.

TABELA 5 - Níveis de gastrina sérica em 43 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Nível de Gastrina sérica	Nº de pacientes
< 108 pg/mL	10 (23,3%)
109- 230 pg/mL	15 (34,9%)
> 231 pg/mL	18 (41,9%)
	43 (100%)

Nota: um paciente não compareceu para o exame.

TABELA 6 - Classificação dos níveis elevados de gastrina sérica de 18 pacientes com diagnóstico histopatológico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Níveis elevados de Gastrina sérica	Nº de pacientes
231-499 pg/mL	10 (55,5%)
500-1000 pg/mL	6 (33,3%)
> 1000 pg/mL	2 (11,1%)
	18 (100%)

Apesar de a hiperplasia de células endócrinas ocorrer mais frequentemente em presença de níveis elevados de gastrina sérica, esta relação não foi estatisticamente significativa entre os casos analisados (TAB. 7).

TABELA 7 – Relação entre a presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas com os níveis séricos de gastrina em amostras da mucosa oxíntica de 41 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Níveis Séricos de Gastrina (pg/mL)	Hiperplasia C.E. (mucosa oxíntica)		
	Presente (nº de casos)	Ausente (nº de casos)	Total de pacientes
Gastrina ≤ 108 pg/mL	6 (17,6%)	3 (42,8%)	9
Gastrina >109 pg/mL	28 (82,3%)	4 (57,1%)	32
Total	34 (100%)	7 (100%)	41

C.E.: células endócrinas; Fisher, $p = 0,1651$. Nota: um paciente não realizou dosagem sérica de gastrina e não foi possível analisar a hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica em dois casos.

O valor médio de gastrina sérica dos pacientes sem hiperplasia de células endócrinas foi menor que o valor médio de gastrina sérica dos pacientes que apresentavam hiperplasia do tipo adenomatóide da mucosa oxíntica, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa. Houve diferença entre os valores médios de gastrina nos demais grupos, porém não-significativa, $p = 0,3761$ (FIG. 9).

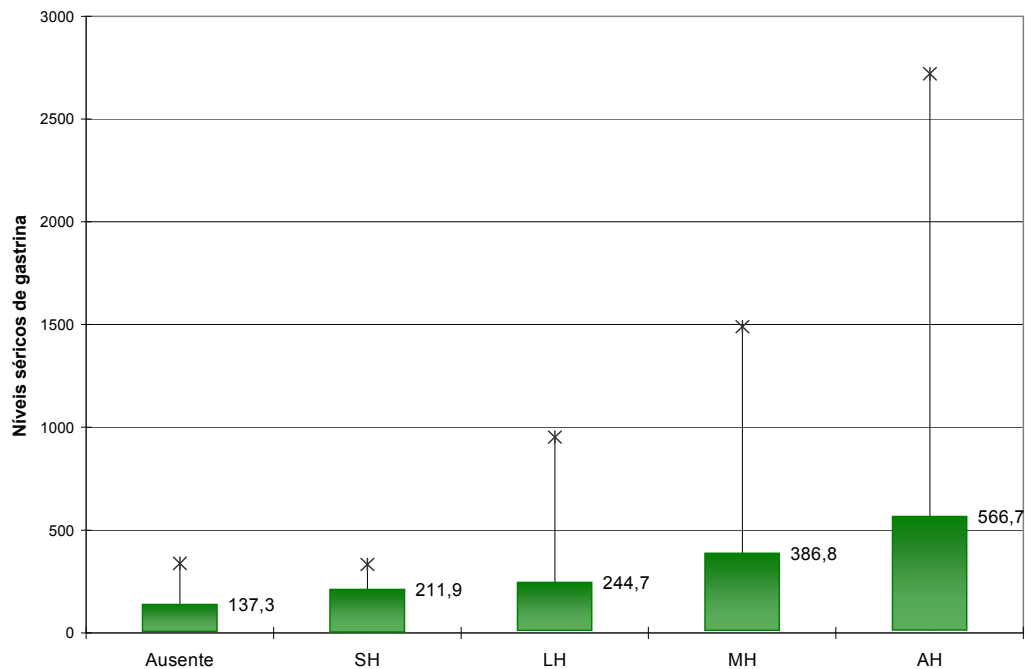


FIGURA 9 – Relação entre os tipos de hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica e valores médios de gastrina sérica em pg/mL de 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo. (*) Nível máximo.

Na análise da mucosa antral, entre oito pacientes que apresentaram hiperplasia de células endócrinas, a gastrina foi maior que 109 pg/mL em seis casos. Entretanto, pacientes sem hiperplasia das células endócrinas da mucosa do antro também apresentaram gastrina sérica elevada (TAB. 8).

TABELA 8 – Frequência da presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas em amostras da mucosa antral de 41 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e relação com os níveis séricos de gastrina.

Níveis Séricos de Gastrina (pg/mL)	Hiperplasia C.E. (mucosa antral)		
	Presente (nº de casos)	Ausente (nº de casos)	Total de pacientes
Gastrina ≤ 108 pg/mL	2 (25%)	8 (24,2%)	10
Gastrina > 109 pg/mL	6 (75%)	25 (75,7%)	31
Total	8 (100%)	33 (100%)	41

C.E.: células endócrinas; Fisher, $p = 1,0000$. Nota: um paciente não realizou dosagem sérica de gastrina e não foi possível análise da hiperplasia de células endócrinas na mucosa antral de dois pacientes.

Entre os 24 pacientes com células parietais ausentes, 21 (87,5%) apresentaram gastrina com níveis superiores a 109 pg/mL sendo que destes 11 (55%) mostraram níveis acima de 231 pg/mL. Os níveis de gastrina sérica estiveram elevados entre os pacientes com distribuição de células parietais em pequenos aglomerados/raras (66,6%), mas não houve diferenças significativas entre os subgrupos (TAB. 9).

TABELA 9 – Relação entre a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias coradas à imunocitoquímica (ICQ) de 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo com os níveis séricos de gastrina.

Níveis séricos de Gastrina (pg/mL)	Distribuição das Células Parietais (ICQ)			Total de pacientes
	CP numerosas (nº de casos)	CP pequenos aglomerados/ raras (nº de casos)	CP ausentes (nº de casos)	
Gastrina ≤ 108 pg/mL	2 (66,6%)	5 (33,3%)	3 (12,5%)	10
Gastrina > 109 pg/mL	1 (33,3%)	10 (66,6%)	21 (87,5%)	32
Total	3 (100%)	15 (100%)	24 (100%)	42

ICQ: imunocitoquímica, CP: células parietais, $p = 0,0645 (\chi^2)$. Nota: um paciente não realizou dosagem sérica de gastrina e não foi possível análise imunocitoquímica em um caso.

5.3.2 Auto-anticorpo contra a célula parietal

O auto-anticorpo contra célula parietal (anti-CP) esteve presente em 32 (72,7%) casos de gastrite atrófica predominante do corpo. Houve relação entre o grau de atrofia da mucosa gástrica oxíntica com a presença de auto-imunidade conforme demonstrado na TAB. 10.

TABELA 10 – Relação entre a presença de auto-imunidade representada pelo auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP) e a intensidade da atrofia da mucosa oxíntica em amostras de biópsias coradas pelo método de imunocitoquímica (ICQ) em 43 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Anti-CP	Distribuição das Células Parietais (ICQ)			Total de pacientes
	CP numerosas (nº de casos)	CP pequenos aglomerados/ raras (nº de casos)	CP ausentes (nº de casos)	
Positivo	1 (33,3%)	9 (56,2%)	21 (87,5%)	31
Negativo	2 (66,7%)	7 (43,7%)	3 (12,5%)	12
Total	3 (100%)	16 (100%)	24 (100%)	43

ICQ: imunocitoquímica, CP: células parietais, $p = 0,02919 (\chi^2)$. Nota: não foi possível análise imunocitoquímica em um paciente.

Todos os pacientes que apresentaram o auto-anticorpo sérico anti-CP reagente apresentaram hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica, $p < 0,0001$ (TAB. 11).

TABELA 11 – Relação entre a presença de hiperplasia de células endócrinas argirófilas em amostras de biópsias da mucosa oxíntica em 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e a presença de auto-imunidade representada pelo auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP).

Anti-CP	Hiperplasia C.E. (mucosa oxíntica)		
	Presente (nº de casos)	Ausente (nº de casos)	Total de pacientes
Positivo	31 (88,5%)	z	31
Negativo	4 (11,4%)	7 (100%)	11
Total	35 (100%)	7 (100%)	42

C.E.: células endócrinas, CP: células parietais, Fisher, $p < 0, 0001$. Nota: não foi possível a análise da hiperplasia de células endócrinas na mucosa oxíntica de dois pacientes.

Pacientes com auto-imunidade contra as células parietais freqüentemente apresentaram níveis elevados de gastrina sérica, porém os níveis de gastrina também variaram entre aqueles com auto-imunidade ausente. Os níveis de gastrina sérica não se relacionaram com a presença ou ausência de auto-imunidade entre os casos analisados, $p=0,4267$ (TAB. 12).

TABELA 12 – Frequência da associação dos níveis de gastrina sérica com a presença de auto-imunidade, representada pela presença de auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP), em amostras de sangue de 43 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo.

Anti-CP	Níveis Séricos de Gastrina (pg/mL)		
	Gastrina ≤ 108 pg/mL (n° de casos)	Gastrina > 109 pg/mL (n° de casos)	Total de pacientes
Positivo	6 (60%)	25 (75,7%)	31
Negativo	4 (40%)	8 (24,2%)	12
Total	10 (100%)	33 (100%)	43

CP: células parietais, Fisher, $p = 0,4267$. Nota: um paciente não realizou a dosagem sérica de gastrina.

5.3.3 Hemograma e Vitamina B₁₂ sérica

Os exames laboratoriais à inclusão no estudo mostraram que nenhum paciente apresentava anemia megaloblástica ou deficiência acentuada de vitamina B₁₂. A macrocitose à hematoscopia foi encontrada em 7 (16%) pacientes. A média do volume corpuscular médio (VCM) encontrada foi 85,5 fL e nenhum paciente apresentou VCM superior a 100 fL. A média da hemoglobina foi 12,6g/ dL. A média do RDW encontrado foi 14,3%. A média das dosagens séricas da vitamina B₁₂ foi 884 pg/mL (160- 5.405 pg/mL). Valores entre 120 – 200 pg/mL foram encontrados em dois pacientes, valores entre 200 – 950 pg/mL foram encontrados em 33 pacientes, valores superiores a 950 pg/mL foram encontrados em nove pacientes.

5.4 Infecção pelo *Helicobacter pylori*

O diagnóstico da bactéria *H. pylori* foi realizado pelo método histológico através da análise de amostras coradas pelo Giemsa/carbolfucsina, uma vez que 33 (75%) pacientes não apresentavam teste da urease realizado na ocasião da biópsia e disponível para estudo. No

momento da biópsia, pela histologia, 8 (18,2%) pacientes foram positivos para o *H. pylori*. Pela análise de prontuários 14 (31,8%) pacientes do estudo apresentaram infecção pela bactéria anteriormente ao diagnóstico de gastrite crônica atrófica predominante do corpo. Não ocorreu associação entre a presença da bactéria e os casos que apresentaram hiperplasia de células endócrinas da mucosa antral (TAB. 13), nem entre a presença do auto-anticorpo contra as células parietais. (TAB. 14).

TABELA 13 – Relação entre a presença da bactéria *Helicobacter pylori* na mucosa antral de 42 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e a ocorrência de hiperplasia de células endócrinas argirófilas na mucosa antral.

<i>Helicobacter pylori</i>	Hiperplasia C.E. (mucosa antral)		Total de pacientes
	Presente (n° de casos)	Ausente (n° de casos)	
Positivo	8 (23,5%)	8 (23,5%)	8
Negativo	8 (100%)	26 (76,4%)	34
Total	8 (100%)	34 (100%)	42

C.E.: células endócrinas. Fisher, $p = 0,3163$. Nota: não foi possível análise da hiperplasia de células endócrinas na mucosa antral de dois pacientes.

TABELA 14 – Relação entre a presença da bactéria *Helicobacter pylori* na mucosa antral de 44 pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo e a presença de auto-imunidade, representada pelo auto-anticorpo contra as células parietais (anti-CP).

<i>Helicobacter pylori</i>	Anti-CP		Total de pacientes
	Positivo (n° de casos)	Negativo (n° de casos)	
Positivo	4 (12,5%)	4 (33,3%)	8
Negativo	28 (87,5%)	8 (66,6%)	36
Total	32 (100%)	12 (100%)	44

C P.: células parietais, Fisher, $p = 0,1847$.

DISCUSSÃO

Entre os casos de gastrite atrófica predominante do corpo estudados predominaram pacientes do sexo feminino, cor parda, trabalhadoras do lar, com média de idade de 54 anos, residentes em Belo Horizonte. O sintoma dispéptico mais freqüente foi a pirose. A queixa de pirose entre os pacientes foi relatada como “azia” ou “queimação” na região epigástrica e constituiu o principal sintoma que levou o paciente a procurar auxílio médico com posterior realização da endoscopia digestiva alta. As principais doenças concomitantes encontradas foram a hipertensão arterial sistêmica e a dislipidemia. O hipotireoidismo esteve presente em 22,7% dos casos. A depressão foi encontrada em 29,5% dos pacientes. Em seu trabalho sobre apresentações clínicas e marcadores de auto-imunidade em 140 pacientes com gastrite atrófica do corpo Annibale e cols. (2005) observaram que 99/140 (70,7%) dos pacientes apresentavam positividade para o auto-anticorpo contra a célula parietal e que 25/140 (17,9%) apresentavam outras doenças auto-imunes associadas: 10 pacientes com diagnóstico de doença da tireóide, seis com alopecia, cinco com vitiligo, dois com psoríase e um com *diabetes mellitus*. Peracchi e cols. (2005) encontraram em 43 pacientes com gastrite atrófica predominante do corpo, as seguintes freqüências de doenças auto-imunes concomitantes: oito casos de hipotireoidismo primário, dois casos de *diabetes mellitus*, um caso de hipoparatiroidismo, um caso de doença de Addison e um caso de síndrome de Sjogren. As manifestações de outras doenças auto-imunes em pacientes com gastrite atrófica do corpo são diversas nos trabalhos apresentados e os sintomas depressivos ou tratamentos específicos para depressão não foram ressaltados.

No presente trabalho, duas pacientes apresentavam história familiar positiva (parentes de primeiro grau) para gastrite atrófica de origem auto-imune com manifestações hematológicas. Os familiares compareceram à entrevista e participaram da pesquisa como voluntários. Varis e

cols. (1979) encontraram em parentes de primeiro grau de 68 pacientes com anemia perniciosa graus mais acentuados de gastrite atrófica e em idades mais precoces que o grupo controle (constituído por parentes de primeiro grau de pacientes sem diagnóstico de gastrite auto-imune), apresentando média de desenvolvimento de gastrite atrófica aos 48 anos, 10 anos mais jovens que os indivíduos controles. A média dos níveis séricos de gastrina foi maior nos parentes de primeiro grau dos pacientes com anemia perniciosa que nos parentes dos indivíduos controles ($p < 0,05$) e os auto-anticorpos contra a célula parietal foram encontrados, respectivamente, em 19% e 7%. Desde então, trabalhos como esses sugerem a importância dos fatores genéticos na origem da gastrite atrófica auto-imune.

O diagnóstico de anemia perniciosa definido por Chanarin (1987) como anemia megaloblástica secundária à deficiência de vitamina B₁₂ pela carência de fator intrínseco prevê a demonstração de eritropoiese megaloblástica medular e a realização de testes de absorção da vitamina B₁₂ na ausência e presença do fator intrínseco exógeno. A denominação de “anemia perniciosa” é freqüentemente utilizada como sinônimo de gastrite atrófica de origem auto-imune quando ocorre deficiência de cobalamina, porque os testes de absorção de vitamina B₁₂ não são realizados de rotina. Conforme descrito por Zittoun (2001) “a expressão *anemia perniciosa* continua sendo utilizada pelos anglo-americanos em detrimento de *doença de Biermer*, expressão esta que deve ser preferida atualmente, uma vez que os pacientes podem apresentar outras manifestações clínicas ou serem afetados pela doença sem manifestar o quadro clássico de anemia megaloblástica”. A análise da história pregressa dos pacientes do presente trabalho, segundo esses critérios, não foi possível e tornou difícil o diagnóstico preciso da presença de anemia perniciosa. Entre 44 pacientes analisados, apenas dois pacientes apresentaram níveis séricos de cobalamina inferiores a 100 pg/mL conforme constava nos respectivos prontuários e apenas um dos 44 pacientes havia realizado

mielograma com confirmação da eritropoiese megaloblástica de origem medular. Os demais pacientes apresentaram registros de diferentes graus de deficiência de vitamina B₁₂ associados ao quadro de gastrite atrófica e já vinham recebendo administração medicamentosa de hidroxicoalamina parenteral. Os exames laboratoriais, incluindo as análises hematológicas, realizados no momento da inclusão dos pacientes mostraram que nenhum deles apresentava anemia perniciosa porque, com poucas exceções já estavam em uso vitamina B₁₂ parenteral; alguns deles apresentavam níveis baixos de hemoglobina, provavelmente secundários a outros fatores.

O tamanho da amostra estudada (44 casos) foi inferior ao número de casos (194 casos) de gastrite atrófica predominante do corpo encontrados entre os laudos histopatológicos do Laboratório de Patologia do IAG no período de abril/2004 a março/2006. O principal fator limitador do número de casos incluídos foi a dificuldade de localização dos pacientes. As mudanças de endereço não registradas impossibilitaram a localização de muitos pacientes, limitando o tamanho da amostra durante o período de realização da pesquisa. Pacientes cujas biópsias eram compatíveis com gastrite crônica atrófica predominante do corpo que residiam em outras cidades e que raramente se deslocavam até Belo Horizonte, recusaram-se a participar da pesquisa alegando principalmente a dificuldade de deslocamento. Pacientes que apresentavam doenças como úlcera péptica gastroduodenal, doença neoplásica gástrica, doença inflamatória intestinal, insuficiência renal crônica foram automaticamente excluídos do estudo. Alguns pacientes selecionados faleceram em períodos anteriores ao início da pesquisa. Com isso a abordagem de 44 pacientes foi a amostra alcançada no decorrer de dois anos de análise.

A seleção dos pacientes foi também limitada durante a seleção das amostras de biópsias. Foram relativamente freqüentes também os casos excluídos pela escassez de amostras de

tecido, seja pelo reduzido tamanho da biópsia, seja pela dificuldade de se obter novos cortes dos blocos de parafina que fossem suficientes para colorações de células endócrinas pelo método de Grimelius e de células parietais através de coloração imunocitoquímica. Os pacientes sem suspeita de apresentar gastrite atrófica de origem auto-imune eram submetidos a endoscopia com biópsia em média de duas amostras da mucosa do corpo e duas amostras da mucosa antral. Conforme alguns autores (DIXON, 1996) a amostragem adequada para investigação mais precisa da atrofia da mucosa gástrica deveria consistir em média de pelo menos seis fragmentos, abrangendo a mucosa gástrica antral e oxíntica. Por outro lado, muitos pacientes da presente série procuraram os serviços do IAG pelas queixas dispépticas sem nenhuma indicação da presença de gastrite crônica atrófica auto-imune, mesmo durante o exame endoscópico. Muitas vezes a presença da doença básica do paciente foi sugerida durante a avaliação histopatológica pelos patologistas do Instituto. Por este motivo, a maioria dos pacientes estudados apresentava, em média, quatro biópsias endoscópicas da mucosa gástrica, geralmente duas amostras do antro e duas amostras do corpo, conforme o procedimento de rotina do setor de endoscopia do IAG. Finalmente, deve-se acrescentar que em certo número de casos de pacientes submetidos à endoscopia, os fragmentos das biópsias foram encaminhados apenas em um único recipiente e, algumas vezes, devido às limitações dos tecidos, ou direção dos cortes, dificultando o reconhecimento das características histológicas de cada amostra, o diagnóstico de gastrite crônica atrófica do corpo, embora suspeitado, não podia ser proposto. Este fato provavelmente deve ter contribuído para reduzir o número provável de pacientes que durante o período estudado pudessem ter o diagnóstico de gastrite atrófica predominante do corpo, além dos 194 de nossa casuística.

Cerca de 80% dos pacientes com gastrite atrófica predominante do corpo analisados se apresentavam em estágios avançados de atrofia da mucosa oxíntica e a análise das amostras

de biópsia coradas pela imunocitoquímica específica para os canalículos secretores das células parietais mostrou ausência de células parietais nas amostras de tecido de 55,8% dos pacientes. Entretanto sabemos que a presença de células parietais, raras ou mesmo em pequenos aglomerados, pode ser encontrada ao longo do espectro evolutivo da gastrite atrófica. A distribuição da metaplasia intestinal e da metaplasia pseudo-antral nas amostras não diferiu significativamente entre os casos.

A infecção pela bactéria *H. pylori* foi feita pelo método histológico e encontrado em 18,2% dos casos. Em 11 pacientes em que o teste da urease foi realizado por ocasião da biópsia, o resultado deste exame foi idêntico ao da análise histológica pelo Giemsa ou carbolfucsina. Foram encontradas freqüências idênticas da presença da bactéria entre pacientes com e sem auto-anticorpos anti-CP. Os achados de Eidt e cols. (1996) mostram freqüências mais elevadas da infecção pela bactéria em estágios pré-atróficos; em graus mais avançados de atrofia, a presença da bactéria foi estimada em 1,9% dos casos. Já a freqüência estimada de infecção pela bactéria em estudos realizados no Japão para pacientes com diagnóstico de anemia perniciosa chegou a 10%. Essa diferença de freqüências pode ser secundária à diferença da prevalência da infecção pelo *H. pylori* entre os países ou à inclusão no estudo de alguns pacientes com gastrite crônica multifocal predominante do corpo associada à infecção pela bactéria em seus estágios de evolução semelhantes à gastrite de origem auto-imune.

A presença das glândulas oxínticas remanescentes em amostras da mucosa do corpo coradas pelo H.E foram identificadas em 78,6% dos casos. A comparação com a identificação das mesmas em amostras coradas pela imunocitoquímica com anticorpo monoclonal específico para antígeno presente nos canalículos secretores das células parietais mostrou a presença destas células em apenas 45% dos casos. É possível que células com características oxínticas

tenham sido identificadas pelo H.E. e não pela imunocitoquímica pelo fato de que esta última técnica esteja marcando elementos enzimáticos específicos dessas células e que provavelmente já estejam comprometidos pela doença auto-imune e, portanto, não podem ser mais identificados pelo método da imunoperoxidase. Segundo Karlsson e cols. (1988) o principal antígeno presente nas células parietais é a H^+ , K^+ ATPase, ou seja a bomba protônica que é um dos principais alvos dos auto- anticorpos na gastrite atrófica auto- imune.

A hiperplasia das células endócrinas foi bem demonstrada pelo método de coloração pela prata. Na mucosa oxíntica, a hiperplasia de células endócrinas foi encontrada em 83,3% dos pacientes e poucos casos apresentaram hiperplasia de células endócrinas da mucosa antral (19%). Os diferentes tipos de hiperplasia endócrina na mucosa gástrica podem estar presentes simultaneamente, apresentando diversos arranjos na mucosa; ou seja, o mesmo paciente pode apresentar um, dois, três ou todos os tipos de hiperplasias comumente descritas. Os níveis séricos de gastrina estavam elevados na maioria dos casos (85%). Os níveis de gastrina considerados intermediários (108-230 pg/mL) na presente análise cursaram com arranjos de células endócrinas similares aos pacientes com hipergastrinemia acentuada. Ao comparar a gastrinemia com a presença ou ausência de células parietais à imunocitoquímica, as diferenças encontradas entre os subgrupos não foram significativas. Ao comparar a gastrinemia com a presença ou ausência de hiperplasia de células endócrinas na mucosa oxíntica e antral, não se observou associação significativa de níveis séricos mais elevados com a presença e o tipo de hiperplasia de células endócrinas. A diferença entre a média da gastrina sérica entre os pacientes sem hiperplasia e a média nos pacientes que apresentaram hiperplasia do tipo adenomatóide, que foi a maior diferença encontrada, não foi estatisticamente significativa. Uma das explicações prováveis desta falta de correlação é que o grupo de pacientes analisados neste trabalho é um grupo homogêneo e o subgrupo formado com níveis normais

de gastrina e sem hiperplasia de células endócrinas na mucosa oxíntica foi relativamente pequeno.

Alguns pacientes, entretanto, apresentaram níveis elevados de gastrina e não apresentaram hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica e antral. A hiperplasia das células *enterochromaffin-like* da mucosa do corpo que ocorre em condições de hipergastrinemia, como na gastrite atrófica do tipo A e na Síndrome de Zollinger-Ellison não têm ainda conhecidos todos os seus fatores desencadeantes e o tempo de curso da doença para que essas mudanças aconteçam. Estudos nessa área tentam comparar a taxa de mudanças na proliferação das células ECL em diferentes grupos de pacientes. Delle Fave e cols. (2002) acompanharam pacientes com gastrite atrófica predominante do corpo e com Síndrome de Zollinger-Ellison durante 48 meses e não observaram variações significativas nos valores de gastrina sérica, no grau de atrofia do corpo e no arranjo de células ECL no primeiro grupo, enquanto no segundo grupo a gastrina sérica se elevou significativamente bem como a densidade das células endócrinas. Resultados como esses mostram que a progressão do crescimento das células ECL na mucosa gástrica humana requer aumentos com picos acentuados e exposição prolongada à acentuada hipergastrinemia. A análise retrospectiva nos prontuários não forneceu dosagens progressas da gastrina dos pacientes, ou seja, não foi possível estimar o tempo médio de evolução da hipergastrinemia entre os pacientes analisados.

Roucaayrol e cols. (1990) relatam que a hiperplasia endócrina permanece inalterada na evolução de pacientes com gastrite atrófica predominante do corpo quando os níveis de gastrina permanecem estáveis durante um período de acompanhamento da evolução de cinco anos. Peracchi e cols. (2005) referem que os níveis séricos de cromogranina A e gastrina são

mais elevados em pacientes com carcinóides gástricos que em pacientes com diferentes graus de atrofia da mucosa do corpo apresentando hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica. De acordo com esses autores outros fatores seriam responsáveis pela evolução para carcinóides gástricos e não somente os níveis elevados de gastrinemia. Estas observações são concordantes com os resultados do presente trabalho, onde a hipergastrinemia presente em pacientes com gastrite crônica atrófica predominante do corpo foi pouco específica para o diagnóstico da presença das lesões das células endócrinas argirófilas entre as amostras analisadas.

O auto-anticorpo contra a célula parietal foi encontrado em 72,7% (32/ 44) dos casos. A presença do auto-anticorpo anti- CP entre os pacientes com gastrite atrófica predominante do corpo apresentou associação com a ausência/ diminuição do número de células parietais identificadas à imunocitoquímica. Conforme descrição da literatura pertinente, a presença de auto-anticorpos séricos anti-CP apresenta boa sensibilidade para o diagnóstico da Doença de Biermer. No presente trabalho, foi encontrada estreita associação entre a presença de hiperplasia endócrina e presença do auto-anticorpo anti-CP ($p < 0,0001$), pois a hiperplasia esteve presente em todos os casos com positividade para o anti-CP. Os níveis elevados de gastrina sérica não se associaram a presença do anti-CP. Desse modo, pode-se concluir que, de acordo com o presente resultado, a hiperplasia de células endócrinas estaria estreitamente relacionada às alterações específicas da auto-imunidade presente entre os pacientes com gastrite atrófica predominante do corpo e, portanto, seria um melhor marcador para esta doença que os níveis séricos de gastrina.

CONCLUSÃO

As principais conclusões do presente estudo podem ser assim enumeradas:

1. A descrição dos achados histopatológicos da gastrite de origem auto-imune são expressivos quando analisados em conjunto com as dosagens séricas de auto-anticorpos contra a célula parietal e de gastrina.
2. A gastrite crônica atrófica predominante do corpo guarda freqüente associação com a presença do auto-anticorpo contra a célula parietal.
3. Entre os casos analisados, todos os pacientes com gastrite atrófica predominante do corpo e auto-imunidade contra as células parietais apresentaram também hiperplasia de células endócrinas da mucosa oxíntica.
4. Os níveis séricos de gastrina entre os pacientes com gastrite atrófica auto-imune estão elevados em 85% dos casos e não guardam relação com a hiperplasia de células endócrinas da mucosa antral.
5. A bactéria *Helicobacter pylori* aparentemente não se relacionou com as alterações na distribuição das células endócrinas na mucosa antral.

REFERÊNCIAS

ALDERUCCIO, F. et al. Animal models of human disease: experimental autoimmune gastritis – a model for autoimmune gastritis and pernicious anemia. **Clinical Immunology**, Prahran, v. 102, n. 1, p. 48-58, 2002.

ANDRÈS, E. et al. Vitamin B₁₂ (cobalamin) deficiency in elderly patients. **Canadian Medical Association Journal**, Strasbourg, v. 171, n. 3, p. 251-259, 2004a.

ANDRÈS, E. et al. Existe-t-il un lien entre les non-dissociations de la vitamine B₁₂ et la maladie de Biermer? **Annales d' Endocrinologie**, Strasbourg, vol. 65, n. 2, p. 118-120, 2004b.

ANNIBALE, B. et al. Lack of specific association between gastric autoimmunity hallmarks and clinical presentations of atrophic body gastritis. **World Journal of Gastroenterology**, Rome, vol. 11, n. 34, p. 5351-5357, 2005.

BARBOSA, A. J. A. et al. Análise histológica da mucosa gástrica, das células enterocromafins e das produtoras de gastrina em biópsias endoscópicas de pacientes com acloridria. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, vol. 22, n. 2, p. 68-73, 1985.

BELAICHE, J. et al. Fundic argyrophil cell hyperplasia in atrophic gastritis: a search for a sensitive diagnostic method. **Acta Gastroenterologica Belgica**, Liège, vol. 56, n. 1, p. 11-17, 1993.

BERGER, A. C. et al. Prognostic value of initial fasting serum gastrin levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome. **Journal of Clinical Oncology**, Bethesda, vol. 19, n. 12, p. 3051-3057, 2001.

BJÖRKQVIST, M. et al. Role of gastrin in the development of gastric mucosa, ECL cells and A-like cells in newborn and young rats. **Regulatory Peptides**, vol. 108, p. 73-82, 2002.

BORCH, K. et al. Relations between circulating gastrin and endocrine cell proliferation in the atrophic gastric fundic mucosa. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Copenhagen, vol. 21, p. 357-363, 1986.

BORCH, K. et al. Basal chromogranin A and gastrin concentrations in circulation correlate to endocrine cell proliferation in type A gastritis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Linköping, vol. 32, p. 198-202, 1997.

BORDI, C. et al. Pathogenesis of ECL cell tumors in humans. **Yale Journal of Biology and Medicine**, Parma, vol. 71, p. 273-284, 1998.

BRENNA, E.; Waldum, H.L. Trophic effect of gastrin on the enterochromaffin-like cells of the rat stomach: establishment of a dose response relationship. **Gut**, Trondheim, vol. 33, p. 1303-1306, 1992.

- BURMAN, P. et al. H⁺, K⁺ ATPase antibodies in autoimmune gastritis: observations on the development of pernicious anemia. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Copenhagen, vol. 26, p. 207-214, 1991.
- CADIOT, G. et al. Comment quantifier les cellules argyrophiles (dont les cellules enterochromaffin-like) de la muqueuse fundique? **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, Paris, vol. 15, p. 14C- 18C, 1991.
- CARMEL, R. Pepsinogens and other serum markers in pernicious anemia. **American Journal of Clinical Pathology**, Los Angeles, vol. 90, n. 4, p. 442-445, Oct. 1988.
- CARMEL, R. Reassessment of the relative prevalence of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. **Clinical and Experimental Immunology**, Los Angeles, vol. 89, n. 1, p. 74-77, Jul. 1992.
- CASTLE, W. B. Development of knowledge concerning the gastric intrinsic factor and its relation to pernicious anemia. **The New England Journal of Medicine**, Boston, vol. 249, n. 15, p. 603-614, 1953.
- CHANARIN, L. Historical review. A history of pernicious anaemia. **British Journal of Haematology**, Richmond, vol. 111, n. 2, p. 407-415, Nov. 2000.
- CHANARIN, L. How to diagnose (and not misdiagnose) pernicious anaemia. **Blood Reviews**, Harrow, vol. 1, n. 4, p. 280-283, Dec. 1987.
- DE BLOCK, C.E.M. et al. Neuroendocrine tumor markers and enterochromaffin-like cell hyper/ dysplasia in type 1 diabetes. **Diabetes Care**, Edegem, vol. 27, n. 6, p. 1387-1393, Jun. 2004.
- DELLE FAVE, G. et al. Progression of gastric enterochromaffin-like cells growth in Zollinger-Ellison syndrome and atrophic body gastritis patients. **Digestive and Liver Disease**, Rome, vol. 34, n. 4, p. 270-278, Apr. 2002.
- DEVECI, M.S.; DEVECI, G. Altered distribution of metaplastic Paneth, gastrin and pancreatic acinar cells in atrophic gastritic mucosa with endocrine cell lesions. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, Ankara, vol. 202, n. 1, p. 13-22, Jan. 2004.
- DIXON, M. F. et al. Classification and grading of gastritis – The updated Sydney System. **The American Journal of Surgical Pathology**, Houston, vol. 20, n. 10, p. 1161-1181, 1996.
- EIDT, S. et al. The histopathological spectrum of type A gastritis. **Pathology, Research and Practice**, Cologne, vol 192, n. 2, p. 101-106, Feb. 1996.
- FARINATI, F. et al. Changes in parietal na mucous cell mass in the gastric mucosa of normal subjects with age: a morphometric study. **Gerontology**, Padova, vol. 39, n. 3, p. 146-151, 1993.
- FELDMAN, M. et al. Effects of aging and gastritis on gastric acid and pepsin secretion in humans: a prospective study. **Gastroenterology**, Dallas, vol. 110, n. 4, p. 1043-1052, Apr. 1996.

FERREIRA, R. C. et al. Parietal cell/ endocrine cell ratio in the oxyntic mucosa of some species of mammals. **Acta Microscopica**, São Paulo, vol. 8, Suppl B, p. 169-170, Oct. 1999.

FRESTON, J.W. et al. Effects of hypochlorhydria and hypergastrinemia on structure and function of gastrointestinal cells. A review and analysis. **Digestive Diseases and Sciences**, Farmington, vol. 40, Suppl 2, 50S- 62S, Feb. 1995.

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

GRAHNQUIST, L.; RUUSKA, T.; FINKEL, Y. Early development of human gastric H,K adenosine triphosphatase. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Stockholm, vol. 30, n. 5, p. 533-537, May 2000.

GRIMELIUS, L. A silver nitrate stain for α_2 cells in human pancreatic islets. **Acta Societatis Medicorum Upsaliensis**, Uppsala, vol 73, p. 243-270, 1968.

GRIMELIUS, L. et al. The parathyroid glands in experimentally induced hypergastrinemia in the rat. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, London, vol. 12, n. 6 , p. 739-744, 1977.

GUYTON, AC. Funções secretoras do tubo alimentar. In: Guyton. **Tratado de Fisiologia Médica**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap 64, p. 623-637.

HÅKANSON R. et al. Time-dependent changes in enterochromaffin-like cell kinetics in stomach of hypergastrinemic rats. **Gastroenterology**, Lund, vol. 105, n. 1, p. 15-21, Jul. 1993.

HARUMA, K. et al. Pernicious anemia and *Helicobacter pylori* infection in Japan: evaluation in a country with a high prevalence of infection. **The American Journal of Gastroenterology**, Japan, vol. 90, n. 7, p. 1107-1110, 1995.

ITO, M. et al. Role of anti-parietal cell antibody in *Helicobacter pylori*-associated atrophic gastritis: evaluation in a country of high prevalence of atrophic gastritis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Hiroshima, vol. 37, n. 3, p. 287-293, Mar. 2002.

KARLSSON, F.A et al. Major parietal cell antigen in autoimmune gastritis with pernicious anemia is the acid-producing H^+ , K^+ -adenosine triphosphatase of the stomach. **The Journal of Clinical Investigation**, Uppsala, vol. 81, n. 2, p. 475-479, Feb. 1988.

KEKKI, M. et al. Serum pepsinogen I and serum gastrin in the screening of severe atrophic corpus gastritis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Helsinki, vol. 26, Suppl 186, p. 109-116, 1991.

KELLY, E.J.; BROWNIEE, K.G. When is the fetus first capable of gastric acid, intrinsic factor and gastrin secretion? **Biology of the Neonate**, Leeds, vol. 63, n. 3, p. 153-156, 1993a.

KELLY, E.J.; LAGOPOULOS, M.; PRIMROSE, J.N. Immunocytochemical localisation of parietal cells and G cells in the developing human stomach. **Gut**, Leeds, vol. 34, p. 1057-1059, 1993b.

KONTUREK, S.J. Gastric secretion – from Pavlov's *nervism* to Popielsky's histamine as direct secretagogue of oxyntic glands. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Krakow, vol. 54, Suppl 3, p. 43-68, Dec. 2003.

LAMBERTS, R. et al. Long- term omeprazol therapy in peptic ulcer disease: gastrin, endocrine cell growth, and gastritis. **Gastroenterology**, Göttingen, vol. 104, p. 1356-1370, 1993.

LECHAGO, J. Gastrointestinal neuroendocrine cell proliferations. **Human Pathology**, Houston, vol. 25, n. 11, p. 1114-1122, Nov. 1994.

MAGNUSSON, I. et al. Gastrin and somatostatin in plasma and gastric biopsy specimens in pernicious anemia. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Stockholm, v. 20, n. 5, p. 623-628, Jun. 1985.

MARCUARD, S.P.; ALBERNAZ, L.; KHAZANIE, P.G. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B₁₂). **Annals of Internal Medicine**, Greenville, v. 120, n. 3, p. 211-215, Feb. 1994.

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

MCCLOY, R.F. et al. Pathophysiological effects of long-term acid suppression in man. **Digestive Diseases and Sciences**, Manchester, v. 40, Suppl 2, 96S- 120S, Feb. 1995.

MCINTYRE, O.R.; SULLIVAN, L.W.; JEFFRIES, G.H., SILVER R.H. Pernicious anemia in childhood. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 272, n.19, p. 981-986, May 1965.

MONGIN, M.; HARLE, J.R.; WEILLER, P.J. Place de l'hypergastrinémie dans le diagnostic de la maladie de Biermer de l'adulte. **Annales de Gastroentérologie et d'Hépatologie**, Marseille, v. 29, n. 1, p. 42-45, Jan.-Feb. 1993.

NEGRINI, R. et al. Antigenic mimicry between *Helicobacter pylori* and gastric mucosa in the pathogenesis of body atrophic gastritis. **Gastroenterology**, vol. 111, p. 655-665, 1996.

NEWTON, J.L. Effect of age-related changes in gastric physiology on tolerability of medications for older people. **Drugs aging**, Newcastle, v. 22, n. 8, p. 655-661, 2005.

OTSUKA, T. et al. Coexistence of gastric- and intestinal- type endocrine cells in gastric and intestinal mixed intestinal metaplasia of the human stomach. **Pathology International**, Nagoya, v. 55, n. 4, p. 170-179, 2005

PERACCHI, M. et al. Plasma chromogranin A in patients with autoimmune chronic atrophic gastritis, enterochromaffin-like cell lesions and gastric carcinoids. **European Journal of Endocrinology**, Milan, v. 152, n. 3, p. 443-448, Mar. 2005.

PERSSON-GAGNEMO, R. et al. Growth of the parathyroid in omeprazole-treated chickens. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Lund, v. 29, p. 493-497, 1994.

PERSSON, P. et al. Gastrectomy causes bone loss in the rat: is lack of gastric acid responsible? **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Lund, v. 28, p. 301-306, 1993.

PETERSSON, F.; BORCH, K.; FRANZÉN, L.E. Prevalence of subtypes of intestinal metaplasia in the general population and in patients with autoimmune chronic atrophic gastritis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Jönköping, v. 37, n. 3, p. 262-266, Mar. 2002.

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

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

ROUCAYROL, A. M.; CATTAN, D. Evolution of fundic argyrophil cell hyperplasia in nonantral atrophic gastritis. **Gastroenterology**, Créteil, vol. 99, p. 1307-1314, 1990.

ROZENGURT, E.; WALSH, J.H. Gastrin, CCK, signaling, and cancer. **Annual Review of Physiology**, Los Angeles, v. 63, p. 49-76, 2001.

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

SAMLOFF, I.M. et al. Relationships among serum pepsinogen I, serum pepsinogen II, and gastric mucosal histology. A study in relatives of patients with pernicious anemia. **Gastroenterology**, Los Angeles, v. 83, p. 204-209, Oct. 1982b.

SIMONSSON, M. et al. Endocrine cells in the human oxyntic mucosa. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Lund, v. 23, p. 1089-1099, 1988.

SOLCIA, E. et al. Histopathological classification on nonantral gastric endocrine growths in man. **Digestion**, Pavia, v. 41, p. 185-200, 1988.

TOH, B.H.; ALDERUCCIO, F. Pernicious anaemia. **Autoimmunity**, Prahran, v. 37, n. 4, p. 357-361, 2004.

TOH, B.H. et al. The 60- to 90- kDa parietal cell autoantigen associated with autoimmune gastritis is a β subunit of the gastric H^+/K^+ -ATPase (proton pump). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Prahran, v. 87, n. 16, p. 6418- 6422, Aug. 1990.

TOH, B.H.; VAN DRIEL, I.R.; GLEESON, P.A. Pernicious anemia. **The New England Journal of Medicine**, Prahran, v. 337, n. 20, p. 1441-1448, Nov. 1997.

TORBENSON, M. et al. Autoimmune gastritis: distinct histological and immunohistochemical findings before complete loss of oxyntic glands. **Modern Pathology**, Baltimore, v. 15, n. 2, p. 102-109, Feb. 2002.

UIBO, R. et al. Association of *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity: a population-based study. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Tartu, vol. 11, n. 1, p. 65-68, Mar. 1995.

VARIS, K. Epidemiology of gastritis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Helsinki, vol. 79, Suppl., p. 44-51, 1982.

VARIS, K. et al. Gastric morphology, function, and immunology in first-degree relatives of probands with pernicious anemia and controls. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 14, n. 2, p. 129-139, 1979.

VARRO, A; ARDILL, J.E.S. Gastrin: an analytical review. **Annals of Clinical Biochemistry**, Liverpool, v. 40, p. 472-480, Sep. 2003.

ZITTOUN, J. Biermer's disease. **La Revue du Praticien**; Créteil, v. 51, n. 14, p. 1542-1546, Sep. 2001.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento e Participação Livre e Esclarecimento:

ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E IMUNOCITOQUÍMICO DOS COMPONENTES EXÓCRINOS E ENDÓCRINOS DA MUCOSA GÁSTRICA DE PACIENTES COM GASTRITE CRÔNICA DE ORIGEM AUTO-IMUNE E CORRELAÇÃO DOS ACHADOS COM A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA.

Caro paciente:

Você está sendo convidado a participar de um estudo que será desenvolvido na Faculdade de Medicina da UFMG com o objetivo de estudar as alterações na mucosa do estômago da gastrite crônica de origem auto-imune e a sua relação com o desenvolvimento de osteoporose ou, mais precisamente, com a diminuição da concentração de cálcio nos ossos.

Alguns aspectos dessas patologias já são conhecidos, porém, a gastrite crônica de origem auto-imune se inicia como uma lesão na mucosa gástrica, apresenta evolução lenta e muitas vezes silenciosa, e somente em estágios mais avançados irá se manifestar clinicamente com sinais e sintomas variáveis, entre eles, a osteoporose.

A gastrite crônica de origem auto-imune apresenta também um caráter genético, de modo que seus parentes de primeiro grau mesmo assintomáticos têm chance de 20% de desenvolver a doença com suas complicações.

As complicações mais comuns na evolução da gastrite crônica de origem auto-imune são a anemia, conhecida como anemia perniciosa, a lesão gástrica, caracterizada por adelgaçamento das paredes da mucosa do estômago e redução da produção do ácido do estômago importante para a execução de suas funções digestivas e algumas vezes, em casos graves, sinais neurológicos (dificuldades de marcha e equilíbrio).

Sendo assim, uma doença com tantas implicações sobre a qualidade de vida, o nosso estudo tenta compreender em quais estágios da gastrite iniciam-se as alterações no depósito de cálcio nos ossos, com o objetivo de identificar precocemente o risco de desenvolvimento de osteoporose.

A osteoporose é definida como o enfraquecimento dos ossos e alteração da arquitetura do esqueleto. Sua principal consequência clínica resulta da fragilidade óssea pela falta do cálcio no osso e aumento da chance de fraturas. Estudos recentes têm demonstrado que a mucosa do estômago participa da absorção e metabolismo do cálcio no osso, explicando a importância de melhor aprofundamento nestes conhecimentos.

A sua participação neste estudo é voluntária.

Uma vez iniciado o estudo, com sua concordância, todas as informações médicas, resultados de exames e acesso a registros médicos são absolutamente sigilosos e confidenciais, de conhecimento exclusivo dos médicos pesquisadores do estudo.

O conhecimento adquirido com a pesquisa será divulgado cientificamente (congressos e revista científicas) sem referência a nomes que possam divulgar sua identificação. O

pesquisador assume o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Procedimentos:

Como você já realizou a endoscopia digestiva alta, por indicação de seu gastroenterologista, e esta se mostrou alterada com atrofia do corpo do estômago, para participar desta pesquisa será necessário colher uma amostra de seu sangue com o objetivo de avaliar a presença de anticorpos contra células parietais confirmando a etiologia desta moléstia no seu estômago. Na amostra colhida também serão dosadas as concentrações de cálcio, fósforo e paratormônio de seu organismo. Caso sua gastrite não seja de origem auto-imune sua participação não será possível, pois estudaremos apenas a gastrite crônica de origem auto-imune.

A segunda etapa da pesquisa consiste na realização de uma densitometria óssea, exame para avaliar a quantidade de cálcio nos ossos e a presença ou não de osteoporose. Os exames serão realizados sem ônus, não incluem contrastes oral ou venoso, não representam risco algum para sua saúde. A densitometria óssea será realizada no Instituto Hermes Pardini, localizado à Rua dos Aimorés, 66, Bairro Serra, Belo Horizonte.

Caso seja diagnosticada a presença de osteoporose no seu exame você será matriculado (a) no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas para tratamento da enfermidade.

Estou ciente de que terei garantida assistência médica necessária ao acompanhamento de qualquer experiência adversa relacionada à realização dos exames nesta pesquisa. Caso você tenha alguma dúvida sobre o estudo, poderá contactar o pesquisador, D^r Alfredo J A Barbosa ou Caroline B Rodrigues pelos telefones: 0 XX 31 3248-9932.

Fica assegurada minha desistência de continuar participando do estudo em qualquer etapa do mesmo, e caberá ao médico pesquisador responsável, a qualquer momento, proceder a minha exclusão se necessário for para o meu bem.

Todas as informações obtidas relativas a minha participação neste estudo serão analisadas em conjunto com aquelas obtidas de outros pacientes, resguardando assim, a confidencialidade de minha participação.

Fica assegurado também o meu direito de ser atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa, ou dos resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Fica assegurado que minha participação é isenta de despesas e que não há compensação financeira na minha participação.

Em caso de dano pessoal diretamente causado pelos procedimentos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem o direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim descrevendo o estudo "Estudo histopatológico e imunocitoquímico dos componentes exócrinos e endócrinos da mucosa gástrica de pacientes com gastrite crônica de origem auto-imune e correlação dos achados com a densidade mineral óssea"

Eu discuti com o D^r Alfredo J A Barbosa e/ou Carolinne B Rodrigues sobre minha decisão de participar deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos deste estudo, os procedimentos a serem realizados, seus possíveis desconfortos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho a garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o estudo, sem penalidades, prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido no atendimento no Serviço aonde venho sendo tratado ou acompanhado.

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG, Av. Presidente Antônio Carlos, 6627, 7^o andar, sala 7018, telefone: (31) 3499-4592, recebendo aprovação em 15 de dezembro de 2004. Sua realização estará de acordo com as Normas do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 196/96 e 215/97), que asseguram proteção aos voluntários envolvidos em pesquisas biomédicas.

.....
Paciente/ representante legal

data

.....
Testemunha

data

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação no estudo

.....
Responsável pelo estudo

data

Belo Horizonte, de de 200 .

APÊNDICE B - Tabela descritiva dos principais resultados da avaliação de 44 pacientes da pesquisa

Paciente	Sexo	Idade	Ac anti-CP	B ₁₂ N: 200-950 pg/mL Deficiente <: 120 pg/mL	Gastrina N < 108 pg/mL Patológico: >231 pg/mL	Hb 12-16 g/dL	Rdw 11,5-15%	VCM 80-100 fL	H. pylori Giemsa/ Carbolf (+/-)	Grau de Atrofia * leve ** mod. *** acent.	Hiperplasia do Corpo	Hiperplasia do antro
1	F	70	+	1558	333	14,4	13,2	83,3	-	***	SH	-
2	F	53	+	646	357	9,8	16	72,5	-	***	MH	-
3	F	42	+	1666	147	12	16,1	81,8	-	***	MH	-
4	M	27	+	445	715	14,6	13,1	95,3	-	**	AH	LH
5	M	66	+	288	417	14,8	13,6	86,6	-	**	∅	∅
6	M	72	-	363	952	11,1	20,5	74,8	-	**	LH	-
7	F	26	+	352	220	11,9	13,2	85,8	+	***	AH	-
8	F	63	+	5405	126	13,1	13,3	90,5	-	***	LH	-
9	F	65	+	266	100,5	13,4	12,3	92,3	-	***	AH	-
10	F	52	+	247	390	9,4	19,3	68	-	***	AH	-
11	F	44	+	412/381	502	10,6	16,7	80,8	-	***	AH	SH
12	F	62	+	447	602	11,7	14,7	85,4	-	***	MH	SH
13	M	36	-	362	114	15,5	12,5	92,8	-	***	-	-
14	M	69	-	202	102	13,4	13,3	94,2	+	***	-	-
15	F	63	-	336	338	12,8	12,7	91,2	-	***	-	-
16	F	64	+	830	161	14,1	12,4	92,8	-	***	AH	-
17	F	51	+	167	609	12,9	16,1	99,3	-	***	AH	-
18	F	32	+	273	411	13,3	12,9	84,2	-	***	MH	-
19	F	75	-	931	420	13,1	13,1	84,7	+	**	LH	-
20	F	51	+	3816	171	10,5	19,4	70	+	***	MH	-
21	F	70	-	1767	74,3	13	14,5	88,6	-	**	-	-
22	F	57	+	429	∅	13,4	13,4	84,7	-	***	AH	-
23	F	74	+	453	63,9	11,7	12,9	93,8	-	***	AH	-
24	M	33	-	160	249	14,7	15,1	86,1	-	***	-	-
25	F	45	+	340	141	11,3	19,9	68,8	+	***	MH	-
26	F	44	-	256	120	13,9	12,3	88,6	+	*	-	-
27	F	73	-	364	61,6	14	13,4	84,7	-	***	∅	-
28	F	41	+	235	178	11,5	14,2	83,5	-	***	LH	-
29	M	73	-	4408	75,6	16,3	13,2	95	+	**	-	-
30	F	76	+	1258	83,7	14,3	13,9	88,7	-	***	LH	-
31	F	43	+	334	90,9	8,8	17,1	73,9	-	***	SH	SH
32	M	39	+	216	171	13,4	12,7	90,8	-	***	MH	-
33	F	75	+	276	256	11,8	12,4	92,7	-	***	AH	LH
34	M	62	+	361	98,6	16	12,1	99,1	-	**	LH	LH
35	F	28	+	3329	273	12,1	15,6	77,7	-	***	AH	-
36	M	55	+	2501	207	15,8	13,2	78,5	-	***	LH	-
37	F	67	-	405	790	10	14,2	91,6	-	***	AH	-
38	F	50	+	747	2720	15,3	11,8	88,9	-	***	AH	LH
39	F	36	-	236	213	8,4	17,7	63	-	***	LH	-
40	F	45	+	376	128	14,6	13,5	84,4	-	***	LH	LH
41	F	60	+	160	170	13,2	∅	79,9	-	***	MH	-
42	F	68	+	237	145	15,1	∅	90,9	-	***	MH	-
43	F	74	+	565	41,4	12,9	12,5	92,3	+	**	LH	-
44	F	62	+	483	1490	14,3	12,8	93,5	-	***	MH	∅

ANEXOS