



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIRURGIA**

**MICHELLE SOEIRO DE OLIVEIRA**

**MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
INFECTADOS COM *Helicobacter pylori* RESIDENTES DE UMA COMUNIDADE  
URBANA NO NORDESTE DO BRASIL**

**FORTALEZA  
2017**

MICHELLE SOEIRO DE OLIVEIRA

MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
INFECTADOS COM *Helicobacter pylori* RESIDENTES DE UMA COMUNIDADE  
URBANA NO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Médico-Cirúrgicas. Área de concentração: metabolismo, fisiologia e biologia celular no estresse.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lúcia Libanez Bessa Campelo Braga

FORTALEZA  
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- O48m Oliveira, Michelle Soeiro de.  
Marcadores do estresse oxidativo em crianças e adolescentes infectados com Helicobacter pylori residentes de uma comunidade urbana no nordeste do Brasil / Michelle Soeiro de Oliveira. – 2017.  
80 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Fortaleza, 2017.  
Orientação: Profa. Dra. Lúcia Libanez Bessa Campelo Braga.
1. Estresse oxidativo. 2. Helicobacter pylori. 3. radicais livres. 4. criança. 5. adolescente.  
I. Título.

CDD 617

---

MICHELLE SOEIRO DE OLIVEIRA

MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
INFECTADOS COM *Helicobacter pylori* RESIDENTES DE UMA COMUNIDADE  
URBANA NO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Médico-Cirúrgicas. Área de concentração: metabolismo, fisiologia e biologia celular no estresse.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lúcia Libanez Bessa Campelo Braga  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Regina Fatima Goncalves Feitosa - Ufc  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>o</sup>. Orleânicio Gomes Ripardo De Azevedo  
Universidade Federal do Ceará (UNIFOR)

À Deus, pelo dom da vida, por sua misericórdia e sua proteção.

Aos meus pais, Pedro e Fatima, pelo amor incondicional e por acreditarem em meus sonhos.

À meu esposo, Júnior pelo incentivo aos estudos, paciência e carinho. Te amo.

À minha irmã gêmea, Michelline, pelo companheirismo e pela amizade sincera.

À minha filha, Clarice, por ser a razão a minha vida e presente de Deus.

In memoriam de meus avos paternos: F<sup>ca</sup>.  
Das Chagas e Alberto, eternas saudades.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. LUSMAR VERAS RODRIGUES, professor titular do Departamento de Cirurgia e coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará (UFC), por seu empenho e dedicação à Pós-Graduação.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. LÚCIA LIBANEZ BESSA CAMPELO BRAGA, Professora Titular do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade concedida, por sua orientação constante, pelo incentivo à pesquisa e competência com que exerce a vida acadêmica. Professora você é um exemplo a se seguir.

A Prof<sup>a</sup>. DRA REGINA FATIMA GONCALVES FEITOSA, Professora aposentada do Departamento de Saúde Comunitária, por participar da Banca de qualificação e defesa e por ajudar nas correções dessa Dissertação.

A Prof<sup>a</sup>. Dra. FLAVIA SANTOS, professora Titular do Departamento de Farmacologia, pela parceria nos experimentos e por me receber tão bem no laboratório.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. ALDO LIMA, professor Titular do Departamento de Farmacologia, pela parceria nos experimento.

Ao Dr. ORLEÂNCIO GOMES RIPARDO DE AZEVEDO, biólogo, pós-doutorando em Farmacologia, pelo companheirismo, amizade, ensinamentos e orientações na conclusão deste estudo. Professor seu apoio e conselhos foram fundamentais nessa conquista.

A Srta. DANILEY VIANA, Enfermeira, Doutoranda em Morfologia, pela amizade, pelo apoio e incentivo nesse mestrado.

A Srta. DEISIANE VIANA, Enfermeira, Doutoranda em Morfologia, pelo apoio, amizade, ensinamento e incentivo nesse mestrado.

A Srta. ANA FLAVIA SERAIME, Doutora em Farmacologia, pela amizade, parceria nos experiemnto, pelos ensinamento e pela troca de conhecimento.

Ao Sr. TIAGO GOMES DA SILVA BENÍGNO, farmacêutico, doutorando em ciências medico-cirurgicas, pela amizade e troca de conhecimentos.

Ao Sr. FELIPE MACIEL SILVA, Biólogo, mestrando em ciências médico-cirúrgicas, pelos ensinamentos e troca de experiência.

A Srta. KRÍSCIA MARIA ALBUQUERQUE PARENTE, farmacêutica, especialista em hematologia, Mestre em Ciências médico-cirúrgicas, pela amizade, pela parceria, pelos ensinamentos, por cuidar de mim e pelas conversas engraçadas. Foram momentos inesquecíveis.

A Srta. GERMANA ELIAS REIS, nutricionista, Mestre em nutrição e saúde, pela amizade e troca de experiência.

A toda a equipe do Laboratório de Produtos Naturais (LPN), pela disponibilidade, amizade e acolhimento.

As Sras. MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA e MAGDA MARIA GOMES FONTENELE, secretárias do Programa de Pós-graduação em Cirurgia da UFC, pela presteza e auxílio no desempenho das atividades letivas deste programa e pela amizade.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da UFC, pelas disciplinas ministradas e conhecimentos compartilhados para a execução do método científico. Foram momentos inesquecíveis.

A todos e todas que, de diversas formas, participaram, contribuíram e viabilizaram a realização deste trabalho.



*“Não a nós, Senhor, nenhuma glória para nós, mas sim ao teu nome, por teu amor e por tua fidelidade.”*

(Salmos 115:1)

## RESUMO

O *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria Gram-negativa que coloniza o estômago humano sendo adquirida durante a infância. A inflamação crônica induzida pela bactéria pode levar a alterações no DNA, resultando no aumento da produção das Espécies Reativas de Oxigênio (ERO). O objetivo desse estudo foi avaliar os níveis séricos de malondialdeído (MDA), glutathiona (GSH), catalase, óxido nítrico-nitrato e nitrito (NO) e mieloperoxidase (MPO) em crianças e jovens infectados e não infectados pelo *H. pylori*. **Materiais e Métodos.** Estudo do tipo descritivo e transversal, realizado na comunidade Parque Universitário em Fortaleza - CE, incluindo 143 indivíduos da comunidade, com idade entre 8 e 18 anos, com média  $\pm$  de 14,16 anos e desvio padrão de  $\pm$  3,85. Sendo que, 48,5% (65/134) do gênero masculino e 51,4% (69/134) do sexo feminino. Foram realizadas entrevistas para coleta de dados epidemiológicos desses indivíduos e colhidas amostras de sangue que foram centrifugadas e extraído o soro e armazenado em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ . A detecção da *H. pylori* foi realizada por meio do Teste Respiratório com Ureia marcada com Carbono 13. As dosagens séricas foram realizadas em Leitor de microplaca para MDA, GSH, NO E MPO, já a catalase foi determinada por Espectofotometria. **Resultados.** Dos 134 indivíduos estudados, 59,7% (80/134) foram *H. pylori* positivos e 40,2% (54/134) negativos, não houve diferença significativa entre os indivíduos *H. pylori* positivos e negativos em relação ao gênero ( $p=0,161$ ) nem faixa etária ( $p=0,647$ ). Também não foi observada significância estatística entre os pacientes *H. pylori* (+) e (-) com relação aos níveis séricos de GSH-Rd ( $92,3\pm 117,6$  e  $75,4\pm 90,6$ ;  $p=0,363$ ) e MPO ( $3,22\pm 3,61$  e  $4,44\pm 5,16$ ;  $p=0,295$ ) respectivamente. Por outro lado, o grupo infectado apresentou níveis séricos mais elevados de MDA ( $0,49\pm 0,3964$  e  $0,27\pm 0,19$  e  $p=0,001$ ), Catalase ( $2,72\pm 2,90$  e  $1,69\pm 1,88$ ;  $p=0,010$ ) e redução de óxido nítrico ( $0,111\pm 0,00$  e  $0,115\pm 0,01$ ;  $p=0,001$ ). Portanto, a infecção causada pelo *H. pylori* está associada com o aumento nos níveis de MDA e catalase e a redução nos níveis de óxido nítrico quando comparados com indivíduos não infectados.

**Palavras-chave:** Estresse oxidativo, *Helicobacter pylori*, radicais livres, crianças e adolescentes.

## ABSTRACT

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is a Gram-negative bacterium that colonizes the human stomach being acquired during childhood. Chronic inflammation induced by the bacterium can lead to changes in DNA, resulting in increased production of Reactive Oxygen Species (ROS). The aim of this study was to evaluate the serum levels of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), catalase, nitric oxide nitrate and nitrite (NO) and myeloperoxidase (MPO) in children and young infected and not infected with *H. pylori*. Materials and methods. A descriptive and cross-sectional study was carried out at the University Park community in Fortaleza, CE, including 143 individuals from the community, aged between 8 and 18 years, mean  $\pm$  14.16 years and standard deviation of  $\pm$  3.85. , 48.5% (65/134) of the male gender and 51.4% (69/134) of the female sex. Interviews were conducted to collect epidemiological data from these individuals and blood samples were collected and centrifuged and the serum was collected and stored in a freezer at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The detection of *H. pylori* was performed by means of the Carbon-13-labeled Urea Respiratory Test. Serum dosages were performed on a microplate reader for MDA, GSH, NO and MPO, and catalase was determined by Spectrophotometry. Results. Of the 134 individuals studied, 59.7% (80/134) were *H. pylori* positive and 40.2% (54/134) negative, there was no significant difference between *H. pylori* positive and negative individuals with respect to gender ( $p = 0,161$ ) or age group ( $p = 0.647$ ). Statistical significance was not observed between *H. pylori* (+) and (-) patients in relation to serum levels of GSH-Rd ( $92.3 \pm 117.6$  and  $75.4 \pm 90.6$ ,  $p = 0.363$ ), and MPO ( $3.22 \pm 3.61$  and  $4.44 \pm 5.16$ ,  $p = 0.295$ ) respectively. On the other hand, the infected group had higher serum levels of MDA ( $0.49 \pm 0.3964$  and  $0.27 \pm 0.19$  and  $p = 0.001$ ), Catalase ( $2.72 \pm 2.90$  and  $1.69 \pm 1$  , 88,  $p = 0.010$ ) and reduction of nitric oxide ( $0.111 \pm 0.00$  and  $0.115 \pm 0.01$ ,  $p = 0.001$ ). Therefore, infection caused by *H. pylori* is associated with increased levels of MDA and catalase and reduced levels of nitric oxide when compared to uninfected individuals.

Key words: Oxidative stress, *Helicobacter pylori*, free radicals, children and youth.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema ilustrativo do alvo das ERO nas biomoléculas do organismo (lipídeos, proteínas e DNA).....	33
Figura 2 – Reação de dismutação do H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> pela catalase.....	35

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	- Distribuição do grupo em função do gênero .....	47
Gráfico 2	- Distribuição da população em função do diagnóstico.....	48
Gráfico 3	- Associação entre os grupos de indivíduos infectados e não infectados por <i>H. pylori</i> e a faixa etária.....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Principais Sistemas de defesa antioxidante.....	34
Tabela 2	- Dados socio-epidemiologicos.....	48
Tabela 3	- Dados epidemiológicos associados à infecção por <i>H. pylori</i> .....	50
Tabela 4	- Associação entre os marcadores do estresse oxidativo e o gênero....	51
Tabela 5	- Associação entre os marcadores do estresse oxidativo e a faixa etária.....	52
Tabela 6	- Associação entre alguns sintomas gastrointestinais e diagnóstico de <i>H. pylori</i> .....	53
Tabela 7	- Concentrações séricas de GSH, MDA, NO, PT e atividade sérica da CAT e MPO de indivíduos infectados (n=80) e não infectados (n=54) pelo <i>H. pylori</i> .....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^1\text{O}_2$	Oxigênio <i>singlet</i>
%	Porcentagem
(CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> )	Ureia
μL	Microlitros
μm	Micrometros
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
ATP	<i>Trisfosfato de adenosina</i>
BabA	Fator de aderencia Baba
C <sup>13</sup>	Carbono 13
C <sup>14</sup>	Carbono 14
cagA	Gene associado à citotoxina A do <i>Helicobacter pylori</i>
cagE	Gene Associado ao aumento da interleucina 8
cag-PAI	Ilha de patogenicidade cag
CAT	Catalase
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DTNB	Ácido nitrobenzoico
ECA	Estatudo da criança e do adolescente
EDA	Endoscopia digestiva alta
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
G	Gravidade
GPx	Glutathiona peroxidase
GSH	Glutathiona
GSSG	Glutathiona oxidada
<i>Hp</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bicarbonato
HO	Radical hidroxila

HOCl	Ácido hipocloroso
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídeo
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL-8	Interleucina 8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de potássio
LPN	Laboratório de produtos naturais
M	Molar
MDA	Malondialdeído
Min	Minuto
Mm	Milímetro
MPO	Mieloperoxidase
N	Número de valores da amostra
NO <sub>2</sub> -	Dióxido de nitrogênio
NADPH	Dinucleotídeo de adenina e nicotinamida fosfato.
nM	nano molar
nM/μL	nano mol por microlitro
NO	Óxido nítrico
O <sub>2</sub>	Oxigênio
°C	Grau Celsius
OH	Radicais hidroxilas
ONOO	Peroxinitrito
p	Valor de p
P450	Citocromo
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
PT	Proteínas totais
RL	Radicais livres
SOD	Superóxido dismutase
T4SS	Sistema de secreção tipo IV
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral
U/L	Unidade por litro
ureA	Urease A
vacA	Gene da citotoxina vacuolizante
VacA	Citotoxina vacuolizante



$X^2$

Qui- quadrado

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	Histórico do <i>H. pylori</i> .....	18
1.2	Aspectos Epidemiológicos da infecção por <i>H. pylori</i> .....	19
1.3	Fatores de risco.....	20
1.4	Características Morfológicas e Bioquímicas do <i>H. pylori</i> .....	21
1.5	Fatores de virulência do <i>H. pylori</i> .....	22
1.6	Afecções gástricas e o <i>H. pylori</i> .....	23
1.7	Forma de transmissão do <i>H. pylori</i> .....	24
1.8	Diagnóstico do <i>H. pylori</i> .....	25
1.8.1	Testes invasivos.....	26
1.8.2	Testes não invasivos.....	27
1.9	Resposta imunológica do indivíduo infectado por <i>H. pylori</i> ....	28
1.10	Radicais livres e Espécies Reativas de Oxigênio e nitrogênio	29
1.11	Estresse Oxidativo.....	32
1.12	Sistema de defesa antioxidante.....	33
1.13	Estresse oxidativo e a Infecção por <i>H. pylori</i> .....	35
2.	JUSTIFICATIVA.....	39
3.	OBJETIVOS.....	40
3.1	Geral.....	40
3.2	Específicos.....	40
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	41
4.1	Casuística.....	41
4.2	Desenho do estudo.....	41
4.3	Local do estudo.....	41
4.4	Seleção dos pacientes.....	42
4.4.1	Critérios de inclusão.....	42
4.4.2	Critérios de exclusão.....	42
4.5	Protocolo do Estudo.....	43
4.6	Critérios de diagnóstico para a infecção por <i>H. pylori</i> .....	43
4.7	Coleta de sangue.....	43
4.8	Determinação das concentrações séricas de Glutathione .....	43

4.9	Determinação das concentrações séricas de malondialdeído	44
4.12	Determinação dos níveis séricos de proteínas totais.....	45
4.10	Determinação da atividade sérica de catalase.....	45
4.11	Determinação dos níveis séricos Nitrito e Nitrato.....	45
4.13	Determinação da atividade sérica de mieloperoxidase .....	46
4.14	Análise estatística.....	46
5.	RESULTADOS.....	47
5.1	Caracterização da população estudada.....	47
5.1.1	Distribuição do grupo em função do gênero.....	47
5.1.2	Dados sócio-epidemiológicos.....	47
5.2	Distribuição da população em função do diagnóstico po <i>H. pylori</i> .....	48
5.3	Associação entre infectados e não infectados pelo <i>H. pylori</i> e a faixa etária.....	49
5.4	Dados epidemiológicos associados a infecção por <i>H. pylori</i> .....	49
5.5	Associação entre sintomas e o diagnóstico por <i>H. pylori</i> .....	51
5.6	Relação entre os marcadores do estresse oxidativo com o gênero e a faixa etária.....	52
5.6.1	Marcadores do estresse oxidativo e o gênero.....	52
5.6.2	Marcadores do estresse oxidativo e a faixa etária.....	52
5.7	Associação entre as concentrações séricas dos marcadores de estresse oxidativo e a infecção por <i>H. pylori</i> .....	53
6.	DISCUSSÃO.....	55
7.	CONCLUSÕES.....	60
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
	ANEXO A – Questionário.....	75
	ANEXO B – Termo de Consentimento.....	76
	ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética.....	78

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Histórico do *Helicobacter pylori*

Estudos sugerem que a relação entre o homem e o *H. pylori* esteja em torno de 60.000 anos. A distribuição da diversidade genética da *H. pylori* está em conformidade com a colonização dos primeiros seres humanos e sua migração a partir do leste africano (BLASER; ATHERTON, 2004).

Bizzozero *et al* em 1858, observou a presença acidental de organismos de forma espiralada no estômago de cães e Salomon em 1896 [Salomon 1896] também notou esse mesmo fato ocorria no estômago de ratos e gatos. Outro estudo relatou a presença de organismos semelhantes no suco gástrico de pacientes com câncer ulcerado de estômago (KREINITZ, 1906). Em estudo realizado posteriormente, foi observado que 43% das biópsias de estômago, apresentavam a existência de uma bactéria que também teria a forma de espiral (DOENGES, 1938).

Na década de 80 o estudo da bactéria *H. pylori* tornou-se alvo extensas pesquisas (COELHO L.; COELHO M., 2005). Nesse período ela foi isolada, na mucosa gástrica de pacientes com gastrite crônica, por dois cientistas Barry Marshall e Robin Warren, modificando assim princípios básicos na Gastreenterologia (MARSHALL, 1983).

Marshall e Warren ao realizarem a cultura do *H. pylori*, observaram bacilos gram negativos flagelados e classificaram como sendo uma nova espécie do Género *Campylobacter*. Verificou também que ela está presente em pacientes com gastrite crônica e úlcera péptica logo, essa descoberta foi essencial para a compressão da etiologia das afecções gástricas (MARSHALL; WARREN, 1984).

É importante ressaltar que em 1983 foi publicado por Warren e Marshall um estudo sobre a resposta imune humana contra o *H. pylori*, que relacionou as características microbiológicas da bactéria, ressaltado sua semelhança com a espécie *Campylobacter* (GUSTAFSON; WELLING, 2010). Classificada em 1989 inicialmente de *Campylobacter pylori*, ela foi reclassificada para o gênero *Helicobacter*, já que era geneticamente diferente do gênero *Campylobacter* (OWEN, 1998).

Antes de Marshall e Warren identificarem, isolarem e cultivarem a bactéria se pensava que nenhuma bactéria poderia viver no estômago humano, devido à grande quantidade de ácido produzida neste órgão, considerado como fatores causadores de úlceras o estilo de vida, o tabagismo e o estresse (MARSHALL, 1983; MARSHALL; WARREN, 1984; WEYDEN; ARMSTRONG; GREGORY, 2005).

Em 1985, Marshall descreveu a infecção após ter ingerido voluntariamente um caldo contendo  $10^9$  organismos de *H. pylori*, adquirindo os sintomas da infecção, em seguida tratou com antibióticos e sais de bismuto (MARSHALL; WARREN, 1984; LOPES *et al.*, 2014). Em 1987 foi publicado um segundo caso de ingestão voluntária, com dose de  $3 \times 10^5$  organismos. Essa é a mínima relatada até hoje em adultos (MARSHALL *et al.*, 1985; MORRIS; NICHOLSON, 1987). Em virtude de tamanha descoberta, Marshall e Warren ganharam no ano de 2005 o prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia (GUZMÁN, 2006; LOPES *et al.*, 2014).

Vale a pena ressaltar que, a infecção por *H. pylori* desempenha um papel importante na úlcera péptica, sendo a principal causa de gastrite crônica e que está relacionada com a gênese do adenocarcinoma gástrico (MARSHALL, 1994).

## **1.2 Aspectos epidemiológicos da Infecção por *H. pylori***

A infecção por esta bactéria é de distribuição cosmopolita, ou seja, encontrada em todo mundo, especialmente em países em desenvolvimento (COELHO; CASTRO, 2002; SIQUEIRA *et al.*, 2007). Estima-se que a incidência do *H. pylori* seja em torno de 70% a 90%, das quais a maior parte da população adquire a infecção ainda na infância (DUNN; COHEN; BLASER, 1997; HUNT *et al.*, 2006).

A prevalência e incidências podem variar de acordo com a região geográfica, idade, gênero, condições socioeconômicas, etnia, nível de escolaridade, ocupação, fatores ambientais aos quais o indivíduo é exposto, hábitos alimentares e grau de exposição a bactéria (BLASER; BERG, 2001; BARBOSA; SCHINONNI, 2011).

No continente Europeu a infecção por *H. pylori* tende a ser inferior nos países do Norte em relação aos do Sul e Leste (EUSEBI; ZAGARI; BAZZOLI, 2014). Contradizendo as estatísticas dos países do norte europeu, Portugal apresentou

82% de casos de infecção por este patógeno, sendo um dos países europeus com maior prevalência de *H. pylori* (BASTOS *et al.*, 2013).

A Ásia apresenta um dos maiores índices de infecção por *H. pylori*, variando entre 54% a 76% (LIM *et al.*, 2013; DORJI *et al.*, 2014). Na China a prevalência da infecção por *H. pylori* varia de acordo com a população estudada e com a área geográfica do país oscilando entre 41,5% a 72,3% (XIE; LU, 2015).

No Chile, Colômbia, Costa Rica, Honduras, México e Nicarágua apresentaram altas de infecção por *H. pylori*, com prevalência de 79,4% em média (PORRAS *et al.*, 2013). Em estudo publicado em 2014 no Brasil mostrou que no Nordeste a prevalência da bactéria é de 56% (RODRIGUES *et al.*, 2004). Já um segundo estudo mostrou, também no Nordeste, uma prevalência de 62,9% na população geral (RODRIGUES *et al.*, 2005).

Anualmente, pelo menos, um milhão de pessoas morrem infectadas por este patógeno, tornando-se importante o conhecimento acerca da patogenicidade da bactéria a fim de traçar estratégias para prevenção e controle desta infecção (BODE *et al.*, 1989; MIZUSHIMA *et al.*, 2001).

### **1.3 Fatores de risco para a infecção por *H. pylori***

A infecção por *H. pylori* é adquirida na primeira infância, particularmente nos cinco primeiros anos de vida (KODIRA; ESCOBAR; GRISI, 2002). Normalmente persiste por toda vida, a menos que seja tratada. As precárias condições socioeconômicas são consideradas como fator de risco para aquisição da infecção (PODDAR; YACHHA, 2007)

Em países desenvolvidos a infecção ocorre após os três anos ou cinco anos, já em países em desenvolvimento a contaminação ocorre com menos de um ano (CARVALHO *et al.*, 1991).

Alguns estudos consideram que um dos maiores fatores preditivos para a infecção sejam as precárias condições socioeconômicas durante a infância (KODIRA; ESCOBAR; GRISI, 2002), pois esses fatores estão fortemente interligados sendo impossível relatar a importância de cada um separadamente (XIA; TALLER, 1997).

Um forte indicador de condições socioeconômicas é a renda familiar que apresenta relação inversa com a presença da infecção por *H. pylori* (Graham *et al.*, 1991).

Outro fator importante na prevalência da infecção é o nível de escolaridade materno. Isso porque as mães alfabetizadas promovem melhores cuidados as crianças, proporcionando uma higiene adequada (MATYSIAK-BUDNIK *et al.*, 1996). Conforme verificado em estudo realizado por Goodman *et al.*, na zona rural da Colômbia, mostrou que as mães que não tinham o hábito de lavarem as mãos e que não possuíam fossa em casa ou que a mesma ficava distante, que esse fatos seriam também fatores de risco para infecção (GOODMAN *et al.*, 1996).

O número de habitantes por moradia é sugerido por vários autores como um fator de risco, principalmente na infância, para a aquisição da doença (GALPIN; WHITAKER; DUBIEL, 1992; GOODMAN *et al.*, 1996; MATYSIAK-BUDNIK *et al.*, 1996).

Vale salientar que, estudo realizado por Webb *et al.*, mostrou que as crianças tem papel importante na transmissão deste patógeno na família. Sendo que a criança além de está mais predisposta à infecção também tem a capacidade de transmiti-la (GALPIN; WHITAKER; DUBIEL, 1992; WEBB *et al.*, 1994).

A infecção por este patógeno está associada ao aumento do risco de câncer gástrico. Alguns estudos epidemiológicos revelam que alta incidência de câncer gástrico em adultos esta relacionada com a infecção adquirida na infância (CHANG *et al.*, 1991) e não erradicada, permanecendo durante toda a infância e adolescência podendo produzir danos irreversíveis na idade adulta. Portanto, é importante que *H. pylori* seja erradicado na infância ou no início da adolescência (CABTREE *et al.*, 1993).

#### **1.4 Características Morfológicas e Bioquímicas do *H. pylori***

A etiologia do nome *H. pylori* significa: *helix* = espiral, *bacter* = bastonete e *pylori* = parte inferior do estômago (MARSHALL; GOODWIN, 1987; GOODWIN, 1989).

A bactéria é encontrada com frequência na forma de espiral ou encurvada, também pode ter a forma de cocos, gram negativa, móvel, sobrevive em meio microaerófilo, tem de 4 a 6 flagelos que possuem de 0,5 a 0,9  $\mu\text{m}$  de largura e

2 a 4 µm de comprimento. Essa bactéria pertence ao Domínio *Bacteria*, filo *Proteobacteria*, classe *Epsilonproteobacteria*, ordem *Campylobacterales*, família *Helicobacteriaceae* e gênero *Helicobacter* (GOODWIN, *et al.*, 1989; GRAHAM, 1994; MONTECUCCO; RAPPUOLI, 2001).

A bactéria é identificada por meio da formação de colônias translúcidas puntiformes e não pigmentadas, com diâmetro de 1-2mm em meio que deve ser incubado em condições microanaeróbicas, em temperatura de 30°C, com crescimento ideal a 35°-37°C e deve ser enriquecido com 10% de CO<sup>2</sup> (PINHEIRO; GONÇALVES; FRANCO, 2004).

A *H. pylori* coloniza o duodeno e o estômago, sobrevivendo muito bem em ambientes ácidos, devido sua capacidade de secretar urease. Esta bactéria tem a capacidade de colonizar a mucosa gástrica humana, sendo um dos poucos microrganismos que consegue sobreviver nesse microambiente ácido. A colonização efetiva da bactéria nesse ambiente ocorre devido aos fatores de virulência que são o formato espiralado, a capacidade de aderir às células da mucosa gástrica, as enzimas a e proteínas de adaptação (BRUCE, 1993).

### **1.5 Fatores de virulência do *H. Pylori***

A motilidade flagelar da bactéria é uma das principais características que garantem a penetração desse patógeno na camada de muco que reveste o epitélio gástrico, protegendo assim a bactéria da acidez do peristaltismo estomacal (HAZEL *et al.*, 1986). Outro fator relevante é a adesão à mucosa gástrica que impede a eliminação da bactéria pelos movimentos peristálticos, visando promover elevadas concentrações de toxinas em determinadas áreas da mucosa gástrica (BRUCE, 1993).

Quando a bactéria se adere à mucosa gástrica, inicia-se um processo inflamatório local e a liberação de toxinas pela bactéria, que reduz a integridade da mucosa. A proteína BabA é a adesina de maior importância (ILVER *et al.*, 1998). Ela permite que haja um contato entre o patógeno e o epitélio gástrico e facilita a liberação de fatores de virulência como o gene *cagA* e *vacA* (GERHARD *et al.*, 1999).

A bactéria também expressa altos níveis de uréase, que hidrolisa a uréia (CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), presente no suco gástrico, transformando em bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>),



elevando o pH da mucosa gástrica para que fique básico com valores de 6,0 para 7,0, protegendo a bactéria dos efeitos deletérios da acidez estomacal (BODE *et al.*, 1989; MARSHALL *et al.*, 1990).

O *H. pylori* codifica alguns genes que atuam de diferentes formas e que estão relacionadas com a virulência da bactéria (BARBOSA; SCHINONNI, 2010).

O gene *cagA* foi o primeiro gene cepa-específico usado para identificar o *H. pylori*. Ele está fortemente ligado ao risco para desenvolvimento de câncer gástrico (PEEK *et al.*, 1999). Esse gene é um marcador da Ilha de patogenicidade *cag*-PAI (COVACCI *et al.*, 1999).

A Ilha de patogenicidade *cag*-PAI é um dos constituintes da bactéria, ela codifica componentes do sistema de secreção do tipo IV (T4SS), atuando como uma seringa injetando moléculas efetoras da bactéria na célula hospedeira, permitindo que a mesma module vias do metabolismo celular humano, incluindo a expressão de proto-oncogênes (COVACCI *et al.*, 1999; COVACCI; RAPPUOLI, 2000).

A citotoxina vacuolizadora ou proteína *VacA* é secretada pela bactéria induzindo uma grande vacuolização citoplasmática *in vitro*. Ela também forma canais iônicos nas membranas plasmáticas, ocasionando à exsudação de uréia para a luz da mucosa gástrica. Logo ela é considerada um importante fator de virulência que pode induzir danos ao DNA (DEBELLIS *et al.*, 2001; SALAMA *et al.*, 2001).

O gene *cagE* é um dos genes da Ilha de patogenicidade *cag* e está associado ao aumento da interleucina 8 (IL-8) (NAITO; YOSHIKAWA, 2002). Já o gene *iceA* está associado às úlceras pépticas e ao câncer gástrico (PEEK *et al.*, 1999).

## 1.6 Afecções Gástricas

O *H. pylori* tem tropismo pelo antro gástrico, mas também pode infectar outras partes do estômago como o corpo e a incisura (CARRASCO; CORVALAN, 2013). A infecção no adulto está relacionada com o desenvolvimento de algumas doenças gastrointestinais, como, gastrite, úlcera péptica, câncer gástrico e linfoma MALT (OLESTRO *et al.*, 2003).

Antes dos anos 80 acreditava-se que a gênese da origem da gastrite, úlcera gástrica, duodenite e úlcera duodenal eram ocasionadas por um desequilíbrio

entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e a secreção ácida (PATEL *et al.*, 1994).

Foi no início dos anos 80 que Marshall e Warren conseguiram isolar pela primeira vez o *H. pylori*. Eles utilizaram fragmentos da mucosa gástrica de um paciente com gastrite crônica. Esse fato alterou profundamente os princípios da gastroenterologia (MARSHALL; WARREN, 1983).

A gastrite na fase inicial aguda é assintomática ou sintomática com algumas manifestações clínicas como náuseas e vômitos, que podem evoluir para uma gastrite crônica (CARRASCO; CORVALAN, 2013).

Na colonização persistente por *H. pylori* existe uma relação íntima entre o nível de secreção ácida e a distribuição da gastrite. Sendo assim, quanto menos ácido é secretado maior é a disseminação da bactéria. Logo a produção do ácido é importante para determinar o prognóstico da infecção (BARBOSA; SHINONNI, 2010).

A principal causa de gastrite crônica ativa é a infecção por *H. pylori* (MARSHALL; WARREN, 1983). Alguns estudos sugerem que esse patógeno tem papel importante na gênese da úlcera péptica (RAUWS; TYTGAT, 1990).

Na pangastrite há uma baixa secreção ácida que pode levar a gastrite atrófica que pode evoluir para a metaplasia intestinal, displasia e finalmente ao câncer gástrico (BARBOSA; SHINONNI, 2010).

Pessoas infectadas por *H. pylori* em sua maioria permanecem assintomáticas, sendo que entre 10 a 20% vão desenvolver úlcera péptica e apenas 1% irão evoluir para câncer gástrico (ERNST; PEURA; CROWE, 2006).

O *H. pylori* após a infecção ativa múltiplas vias celulares que irão afetar as funções celulares levando a produção elevada de citocinas inflamatórias, alterando as taxas de apoptose, proliferação e diferenciação celular epiteliais, resultando em transformação oncogênica das células epiteliais (DING; GOLDBERG; HATAKEYAMA, 2010).

### **1.7 Transmissão do *H. Pylori***

A transmissão pelo *H. pylori* ainda não está totalmente elucidada, contudo o ser humano é o único reservatório desse patógeno (BROWN, 2000). A hipótese mais aceita é que essa transmissão ocorra por meio da via oral-oral e fecal-oral (BUI

*et al.*, 2016) ou ainda por meio de aparelhos endoscópicos (HIDEKI *et al.*, 1995). Logo a transmissão desse patógeno está diretamente relacionada com as condições de higiene (R.H. Hunt C, *et al.*, 2010).

Na transmissão por via oral-oral, a cavidade oral tem sido apresentada como reservatório de infecção e reinfecção pela bactéria, já que a regurgitação do suco gástrico pode contaminar a boca, facilitando a colonização por esse patógeno. Além disso, alguns estudos demonstram a presença desse patógeno na placa dentária ou saliva (SIQUEIRA *et al.*, 2007).

Ainda não se conhece o mecanismo exato de transmissão do agente pela via oral-fecal, contudo o *H. pylori* pode ser eliminado pelas fezes. Nesse sentido vale a pena ressaltar que, a disseminação de doenças infecciosas que são transmitidas pela água e esse fato se baseiam em sua contaminação por fezes (SIQUEIRA *et al.*, 2007; PINHEIRO).

A transmissão iatrogênica ocorre quando a bactéria pode ser transmitida por instrumentos endoscópicos, devido à falta de higienização ou higienização inadequada, principalmente quando a lavagem do equipamento é manual. Esse tipo de infecção tem sido muito documentada (KODAIRA; ESCOBAR; GRISI, 2002).

A aglomeração intrafamiliar também é um fator importante na transmissão desse patógeno (BUJANOVER *et al.*, 1997). Estudo realizado por Drumont *et al.*, mostrou uma sorologia positiva em mais de 80% de irmãos com a bactéria (BLASER; BERG, 2001). Outro estudo evidenciou uma maior incidência da infecção em crianças filhas de pais infectados (MALATU, 1991).

## **1.8 Diagnósticos do *Helicobacter pylori***

Existem diversos métodos para detectar a *H. pylori*, esses métodos estão divididos em dois grupos, que incluem métodos invasivos e métodos não invasivos. Para a realização do método invasivo é necessário a realização de uma Endoscopia digestiva alta (EDA) para retirada de biópsia do estômago (MENTIS; LEHOURS; MEGRAUD, 2015), necessárias para realização de exames como teste rápido da uréase (YAMAOKA, 2008), biologia molecular, exame histopatológico e cultura da bactéria. Já para realização de métodos não invasivos não é necessário a realização de EDA e incluem os seguintes exames teste respiratório (CUTLER; PRASAD;

SANTOGADE, 1998), testes sorológicos, pesquisa de antígenos nas fezes e o Enteroteste (PEREZ-TRALLERO; ROTHENBACHER; BRENNER, 2004).

Avanços na EDA e o desenvolvimento de testes moleculares buscam melhorar o diagnóstico para detecção dessa bactéria (MENTIS; LEHOURS; MEGRAUD, 2015).

Atualmente o teste rápido da uréase é muito utilizado para detectar esse microrganismo, esse teste ocorre quando um fragmento da mucosa gástrica é colocado num frasco contendo uréia e vermelho de fenol, usado como indicador de pH. A enzima converte uréia, que está no suco gástrico, em amônia e bicarbonato, promovendo um pH alcalino. Quando o pH se eleva, acaba prevenindo o acúmulo tóxico de ureia dentro da bactéria e protege esse agente infeccioso dos efeitos nocivos do pH ácido do estômago (WARREN; MARSHALL, 1983; TOMBOLA *et al.*, 2001; YAMAOKA, 2008).

### 1.8.1 Testes invasivos

A EDA é um exame muito utilizado para obtenção de fragmentos da mucosa gástrica, que são utilizados para detectar a presença de *H. pylori*, no entanto, como esse patógeno tem uma vasta distribuição no estômago, os testes que utilizam biópsia podem apresentar falhas no diagnóstico, por esse motivo devem ser retiradas muitas amostras do corpo e do antro dessa região (VAN ZWET *et al.*, 1996).

Para realização do Teste rápido da uréase é necessário uma EDA para retirada de um fragmento de tecido da mucosa gástrica da pessoa. Esse fragmento, é colocado em solução de uréase, na presença da bactéria ela irá sintetizar a enzima uréases que, converte a uréia em amônia e bicarbonato, tornando o pH do meio alcalino, mudando a coloração de amarelo para vermelho, indicando resultado positivo para a infecção (MARSHALL; GOODWIN, 1987).

A Reação em cadeia da polimerase (PCR) é um dos métodos com elevada sensibilidade e especificidade que pode ser realizado com biópsia gástrica, suco gástrico, placa dentária, saliva, cultura e até mesmo das fezes. Trata-se de uma técnica que identifica sequências específicas de genes presentes no genoma da bactéria, por meio da utilização de oligonucleotídeos sintéticos, que auxiliam na

replicação enzimáticas das sequências de DNA definidas, permitindo que a bactéria seja identificada (CLAYTON *et al.*, 1992; GISBERT, 2000).

A análise histopatológica utiliza amostras de biópsia. Trata-se de um método bastante sensível e com especificidade superior a 95% (LONGO *et al.*, 2011). Em estudo recente os autores demonstraram que a coloração com azul de toluidina modificada para detecção de *H. pylori* nas biópsias gástricas mostrou uma sensibilidade significativamente melhor em relação ao método Hematoxilina-Eosina (HE) (SAKONLAYA *et al.*, 2014).

O método de cultura para *H. pylori* exige meios de cultura específicos, a cultura exige baixas concentrações de oxigênio e de CO<sub>2</sub>, temperatura em torno de 37°C e pH neutro. O crescimento é lento necessitando de 3 a 4 dias, para formar colônias pequenas e translúcidas (STEVENSON TH *et al.*, 2000; KUSTERS; VAN; KUIPERS, 2006). Apresenta uma sensibilidade entre 80% a 93% e especificidade entre 95% a 100% (LERANG F *et al.*, 1998; LOGAN; WALKER, 2001).

### 1.8.2 Testes não invasivos

O teste respiratório com ureia marcada é considerado o padrão ouro na detecção do *H. pylori*, é um método simples e rápido. Nesse exame são utilizados dois isótopos de carbono o <sup>13</sup>C não radioativo e o <sup>14</sup>C radioativos, onde o paciente ingere uma solução com ureia marcada com um desses radioisótopos, se ela estiver infectada pela bactéria, a enzima uréase (produzida pelo *H. pylori*) hidrolisa a ureia em CO<sub>2</sub> que é expelido pelo ar respirado (LOGAN; WALTER, 2001; FERWANA *et al.*, 2015). Vale a pena ressaltar que, esse teste apresenta sensibilidade superior a 90% e alta especificidade (LONGAN; WALTER, 2001).

Outro método não invasivo é o método sorológico ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e o Western Blot, que se fundamenta na presença de anticorpos anti-*H. pylori* (IgG), em amostras de soro de pessoas infectadas pela bactéria (VINETTE *et al.*, 2004). Essa técnica demonstra uma alta precisão, mostrando sensibilidade que varia entre 75,4% a 89,7% e especificidade de entre 80,7% a 100% dependendo do kit de imunoensaio utilizado (LEE *et al.*, 2015).

A pesquisa de antígeno fecal, uma técnica também não invasiva, fundamenta-se na utilização de anticorpos monoclonais ou policlonais para detecção de antígenos do *H. pylori* (LONGO *et al.*, 2011). Trata-se de um teste relativamente

barato que apresenta especificidade e sensibilidade maiores que 90% (LOGAN; WALKER, 2001). Em pesquisa realizada utilizando esse método, foi verificado em crianças, uma sensibilidade e especificidade de 92,1% e 94,1% respectivamente (ZHOU *et al.*, 2014).

Outro teste preciso e minimamente invasivo é o Enteroteste, onde a pessoa ingere uma capsula por via oral, para extração do suco gástrico e depois é realizado o PCR (reação em cadeia da polimerase) do suco gástrico. Um estudo realizado pelo grupo do Laboratório de Gastroenterologia utilizando este método demonstrou uma elevada especificidade e sensibilidade com 100% e 93% respectivamente (GONCALVES *et al.*, 2013).

A infecção por *H. pylori* induz processos inflamatórios, durante esses processos radicais livres são gerados e reagem com o DNA podendo induzir a expressão de proto-oncogenes (DRAK *et al.*, 1996).

### **1.9 Resposta imunológica do indivíduo infectado por *Helicobacter pylori***

A resposta imunológica do indivíduo é um fator determinante das alterações anátomo-patológicas observadas na mucosa gástrica, já que é necessário que o hospedeiro reconheça a bactéria como um agente agressor e não como um comensal (HAZT *et al.*, 1992).

Existem muitas evidências de que a infecção por *H. pylori* determina uma forte resposta imunológica local e sistêmica (BOOTH *et al.*, 1986). Sendo que a maioria dos indivíduos não consegue erradicar a bactéria (GENTA; GRAHAM, 1994), que resulta de uma deficiente regulação de células T (ERNEST; GROWE; REYES, 1995).

Após a infecção existe um acúmulo de neutrófilos e um infiltrado de eosinófilos, sendo a primeira reação do hospedeiro ao microorganismo (GOODGAME *et al.*, 1995). Iniciando assim um processo agudo de resposta imune local e sistêmica (BOOTH *et al.*, 1986), que se caracteriza por um infiltrado inflamatório misto, com neutrófilos, células T e plasmócitos (ERNEST GROWE; REYES, 1995). Sendo que a resposta imunológica sistêmica se manifesta por um aumento de anticorpos das subclasses IgA e IgG (RATHOBONE *et al.*, 1986).

## 1.10 Radicais Livres e Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio

Em 1954 foi publicada uma teoria por Gerschuman, sobre a toxicidade do oxigênio em sua forma reduzida. Nesse sentido, Denham Harman *et al.*, sugeriram a definição de radicais livres (RL) como sendo substâncias reativas, que estão envolvidas no processo de envelhecimento (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VALKO *et al.*, 2007).

Radicaís livres de oxigênio e nitrogênio são definidos como moléculas ou fragmentos de moléculas que apresentem um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Normalmente estas espécies são instáveis, possuindo uma meia vida curta, fazendo com que elas reajam rapidamente com diversas substâncias (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; CAPUTO; CHATGILIALOGLU *et al.*, 2012).

O elétron desemparelhando do radical livre pode estar localizado em um átomo de hidrogênio, oxigênio, carbono, enxofre ou átomos de metais de transição. O oxigênio no estado fundamental ( $O_2$ ) e o óxido nítrico ( $NO\bullet$ ) são as duas substâncias de maior importância que podem gerar radicais livres na natureza (ABDALLAR, 2006).

A geração de Radicais Livres é um processo fisiológico e contínuo, que exerce funções biológicas importantes. Esses radicais, durante processos metabólicos, atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas. Sua produção em proporções adequadas, possibilita a produção de energia (ATP), por meio da cadeia transportadora de elétrons, ativação de genes e participação de mecanismos de defesa durante o processo infeccioso. Contudo, a produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SHAMI; MOREIRA, 2004).

O  $O_2$  sofre redução tetravalente, com a aceitação de quatro elétrons, formando a água ( $H_2O$ ), esse processo ocorre na mitocôndria. A enzima que catalisa essa reação é a citocromo oxidase, ela controla a geração das Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), impedindo o seu excesso. Mesmo assim, cerca de 2% a 5% do  $O_2$  metabolizados nas mitocôndrias serão desviados para outra via, e reduzidos de forma univalente, dando origem aos radicais livres (BARBOSA *et al.*, 2010).

Os radicais livres podem trazer efeitos benéficos ao organismo, quando estão em baixas ou moderadas concentrações, agindo na defesa contra agentes

infecciosos e na ativação de sinalização celular. Já quando estão em excesso, podem causar danos celulares que podem atingir lipídeos de membranas, carboidratos, proteínas e DNA, levando a uma inibição de reações essenciais ao organismo (VICENT; TAYLOR, 2006).

Os radicais livres derivados do oxigênio correspondem a classe mais importante para as espécies reativas no organismo vivo. Aproximadamente 95% do oxigênio produzido durante o metabolismo aeróbico é usado para a produção de energia, no entanto o restante não é totalmente oxidado em água (KOWALTOWSKI *et al.*, 2009).

Todos os organismos vivos aeróbios usam o oxigênio como acceptor final de elétrons na cadeia transportadora de elétrons. Quando o oxigênio é reduzido à água, ocorrem à geração de subprodutos altamente reativos, conhecidos como Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

O termo ERO inclui todas as moléculas quimicamente reativas oriundas do oxigênio, englobando radicais livres como o radical hidroxil ( $\text{HO} \bullet$ ) e o ânion superóxido ( $\text{O}_2 \bullet^-$ ), assim como os não radicais, como o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), e o oxigênio *singlet* ( $^1\text{O}_2$ ). Sendo que, esses últimos não são considerados radicais livres, já que não possuem elétrons desemparelhados (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Já o ERN incluem o  $\text{NO} \bullet$ , dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2^-$ ), o peroxinitrito ( $\text{ONOO} \bullet$ ), que não é um radical livre e encontra-se em sítios de injúria tecidual (HALLIWELL, 2006).

Nesse sentido é importante ressaltar que, as ERO (Espécies reativas de oxigênio) e as ERN (Espécies reativas de nitrogênio) são produzidas durante alguns processos metabólicos de forma contínua (URSO, 2003). Evidências sugerem ainda que as ERO's e ERN's participam de processos fisiológicos como envelhecimento, e fisiopatológicos como a doença aterosclerótica, distúrbios oftalmológicos e as doenças neurodegenetivas (FINKEL; THOLBROOK, 2000).

Entre as ERN o óxido nítrico (NO) tem destaque, sendo a menor molécula considerada como um radical livre (GRAFOURIFAR; CADENAS, 2005). O NO é uma espécie reativa bastante abundante no corpo humano, trata-se de um gás inorgânico, eletricamente neutro, cuja função é atuar como sinalizador de moléculas em vários processos fisiológicos como: neurotransmissão, regulação da pressão



arterial, mecanismos de defesa, relaxamento da musculatura lisa e regulação do sistema imune.

É importante ressaltar que, o NO tem vida média de apenas alguns segundos, é solúvel tanto no ambiente lipídico quando aquoso. Ao interagir com o  $O_2$  e com a  $H_2O$ , libera ânions de nitrato e nitrito. Quando reage com o superóxido libera o peróxido de nitrito ( $ONOO^-$ ) que é um potente agente oxidante capaz de fragmentar o DNA e ocasionar peroxidação lipídica (CARR *et al.*, 2000; VASCONCELOS *et al.*, 2007). Ele é produzido por células endoteliais, macrófagos e por neurônios centrais, na manutenção do tônus vascular e inibindo a agregação plaquetária e a adesão dos neutrófilos e plaquetas ao endotélio vascular (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002).

O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e radicais hidroxilas ( $\bullet OH$ ), são altamente reativos e podem sofrer reações redox interagindo com moléculas a sua volta para retornar a uma condição mais estável. Já o  $H_2O_2$  é definido como um agente pró-oxidante não radical, tem papel importante na geração de dano oxidativo, pois pode se difundir nas membranas biológicas, podendo gerar o radical  $\bullet OH$ . As ERO podem ser geradas por fontes endógenas ou exógenas. Sendo que as principais são a fosforilação oxidativa na mitocôndria, o metabolismo do citocromo P450, os peroxissomos, as enzimas lipoxigenases e NADPH oxidases (KLAUNIG; KAMENDULIS, 2004). Esses radicais podem causar vários danos a macromoléculas (NOVO; PAROLA, 2008).

Alguns estudos sugerem que parte das ERO são produzidas intracelularmente na mitocôndria, sendo esses elementos gerados principalmente em dois pontos da cadeia transportadora de elétrons: no complexo I (NADH desidrogenase) e no complexo III (ubiquinona-citocromo C redutase). Já o ânion superóxido seria gerado pela redução do  $O_2$  nestes complexos, em seguida era convertido em peróxido de nitrogênio pela superóxido dismutase (SOD) mitocondrial (CADENAS; DAVIES, 2000). As ERO também podem ser produzidas de forma exógena como uma consequência de radiação ionizante, luz ultravioleta, toxinas do ambiente, quimioterápicos e citocinas inflamatórias (FINKEL; HOLBROOK, 2000).

Quando as ERO interagem com os ácidos graxos poli-insaturados em membrans fosfolipídicas podem sofrer peroxidação dos lipídios consequentemente degradação e fragmentação. Já quando interagem com as proteínas, essas podem ser modificadas levando a oxidação de resíduos de aminoácidos e formação de

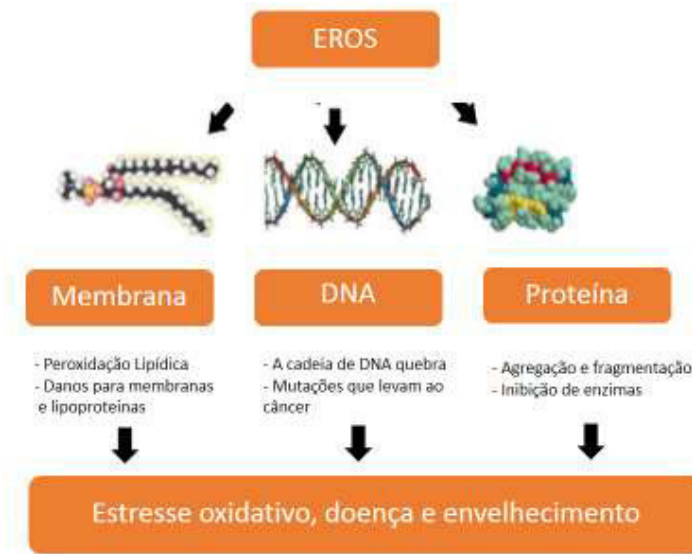
ligações dissulfeto intramoleculares. Mas umas das consequências mais graves do estresse oxidativo é a formação de lesões no DNA, que pode levar uma instabilidade genômica e resultar em morte celular ou neoplasia (MAYNARD *et al.*, 2009).

### 1.11 Estresses Oxidativo

Quando ocorre um desequilíbrio entre a formação e a remoção das ERO isso leva a um estado de estresse oxidativo. Esse fato leva a ocorrência de ataques dessas espécies reativas a componentes celulares, especialmente os lipídeos, provocando danos teciduais, que se relaciona com a patogenicidade de várias doenças, entre elas aterosclerose, diabetes, doenças renais e câncer (HALLIWELL, 1993; KESAVULU *et al.*, 2001).

Estas ERO podem causar prejuízo a diferentes biomoléculas, como: lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (**Figura 1**) (FRIDOVICH, 1998; VALKO *et al.*, 2006; CADET; DOUKI; RAVANAT, 2010). Dessa forma, podem comprometer a integridade celular por causar danos a membrana plasmática, danos na cromatina, redução da eficiência metabólica, mutações, podendo ainda ocasionar morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; GRUNING *et al.*, 2010; KRYSTON *et al.*, 2011). Vale a pena ressaltar que, se esse dano não for controlado pode contribuir para o desenvolvimento de doenças agudas ou crônicas (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004)

**Figura 1-** Esquema ilustrativo do alvo das ERO nas biomoléculas do organismo (lipídios, proteínas e DNA).



Fonte: Adaptado de (AVERI, 2011).

A peroxidação lipídica inicia quando as ERO atacam ligações duplas ou triplas de ácidos graxos poliinsaturados mudando sua confirmação química inicial, ocasionando alterações na integridade estrutural, perda de fluidez e aumento da permeabilidade a íons das células (CHIHUAILAF; CONTRERAS; WITTEWER, 2002). Vários biomarcadores vêm sendo usados para avaliar o estresse oxidativo, principalmente o malondialdeído (MDA) (ESTERBAUER; CHESEMAN, 1990), por ser um dos produtos secundários da peroxidação lipídica mais conhecida.

O processo de peroxidação lipídica possui três estágios: iniciação, propagação e terminação (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). O produto inicial da peroxidação são os hidroperóxidos lipídicos, contudo são formados diversos intermediários. Um dos produtos mais conhecidos formados na peroxidação lipídica é o malondialdeído (MDA), ele tem ação mutagênica em bactérias e mamíferos (LUCZAJ; SKRZYDLEWSKA, 2003). O MDA possui alta citotoxicidade e ação inibidora sobre as enzimas protetoras, atuando como um promotor de tumor (SEVEN *et al.*, 1999).

## 1.12 Sistemas de Defesa Antioxidante

O corpo humano possui um sistema de proteção antioxidante que tem a função inibir os efeitos deletérios das EROs através do equilíbrio entre os agentes

pró-oxidantes e antioxidantes (CHIHUAILAF; CONTRELAS; WITTEWER, 2002; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Nesse sentido, o excesso de Radicais Livres produzidos durante os processos metabólicos culminou no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante, cujo objetivo é limitar os níveis intracelulares de espécies reativas e controlar a ocorrência de danos (BIANCHI; ANTUNES, 1999; SHAMI; MOREIRA, 2004).

Existe uma série de estratégias de defesas antioxidantes para proteger o organismo de ataques de ERO. Essas estratégias possuem três etapas: prevenção (evitar a formação da ERO), interceptação (neutralização da ERO) e reparação (reparar os danos ocasionados pela ERO) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Os sistemas de homeostase são exemplos de prevenção contra a formação de ERO. Existem dois tipos de antioxidantes, os enzimáticos (Tabela 1), e os não enzimáticos, que tem por objetivo que os ERO não ocasionem danos aos componentes celulares. Mas quando o dano já tiver ocorrido, existem sistemas capazes de repará-lo, como o sistema de reparação do DNA (VALKO *et al.*, 2006; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

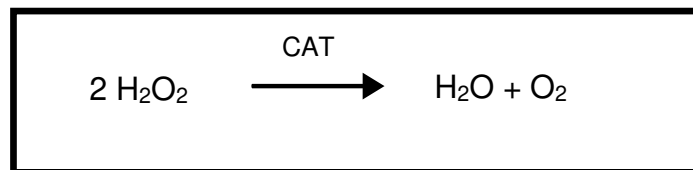
**Tabela 1-** Principais Sistemas de defesa antioxidante

Defesa	Função
<b>Enzimático</b>	
Catalase (CAT)	Distribuição intra e extracelular; dismuta o H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> a H <sub>2</sub> O e O <sub>2</sub>
Glutathione redutase	Enzima responsável pela regeneração de glutathione oxidada (GSSG) a glutathione reduzida (GSH) utilizando o NADPH doador de elétrons
Glutathione (GSH)	Doador de elétrons em várias reações enzimáticas antioxidantes além de um “sequestrador” de ERRO
Óxido nítrico	Função é atuar como sinalizador de moléculas em vários processos fisiológicos

Fonte: Elaborado pela própria autora.

A Catalase um exemplo de antioxidante, trata-se de uma hemoproteína que catalisa o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (Figura 2) Neutralizando assim a ação tóxica do mesmo. Ela é produzida por quase todos os organismos vivos, estando presente em células eucaróticas, tendo o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como único substrato (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; ZAMOCKY; FURTMULLER; DOMINGUEZ; SOSA-PEINADO; HANSBERG, 2010).

**Figura 2** - Reação de dismutação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela catalase



Fonte: Elaborado pela própria autora

A glutathione é um dos principais antioxidantes do nosso organismo, ela é composta por um tripeptídeo (glutamato, cisteína e glicina), sendo encontrada na maioria das vezes em sua forma reduzida (GSH). O sistema Glutathione é composto por três enzimas principais que são a glutathione redutase, Glutathione peroxidase (GPX) e glutathione transferase, sendo a GPX a principal linha de defesa contra o estresse oxidativo (CHU *et al.*, 1993, 2004).

A GSH tem por objetivo proteger as células contra danos oxidativos causados por oxidantes, agindo como sequestradora de radicais livres (PASTORE *et al.*, 2003; NOCTOR *et al.*, 2011). É utilizada por uma série de enzimas como GPx, glutathione-S-transferase e glutaredoxina (MEISTER, 1995; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A GSH também é tem papel fundamental em processos fisiológicos, como no metabolismo de aminoácidos, homeostasia, sinalização celular e defesa contra agentes eletrofilicos e xenobióticos (DIAZ VIVANCOS *et al.*, 2010; CIRCU; AW, 2012; GEENEN *et al.*, 2012; ZHANG; FORMAN, 2012).

A mieloperoxidase (MPO) é uma hemoproteína expressa mais abundantemente por neutrófilos, é a maior constituinte dos granulócitos azurófilos citoplasmáticos. Uma de suas principais funções é a produção de ácido hipocloroso (HOCl), que tem ação antimicrobiana. Além disso, ela está envolvida na sinalização de apoptose de várias células, incluindo células do sistema imune (KLEBANOFF, 2005).

### 1.13 Estresse Oxidativo e a Infecção por *H. pylori*

Os mecanismos envolvidos na inflamação induzida por *H. pylori* ainda não estão completamente esclarecidos, contudo o papel das ERO/ERN na

patogenicidade de doenças associadas com esta bactéria é amplamente relatado (WANG *et al.*, 2008).

O *H. pylori* tem a capacidade de colonizar o ambiente hostil da mucosa gástrica. O organismo do hospedeiro reage gerando uma resposta inflamatória, com a produção de grande quantidade de urease para tamponar o baixo pH do estômago. A bactéria possui a capacidade de penetrar na camada de muco até a área protegida adjacente a superfície epitelial, por possuírem uma alta motilidade e capacidade quimiotática (STENT; EVERY; SUTTON, 2012).

A resposta inicial a infecção por esta bactéria é basicamente neutrofílica, onde esses liberam mediadores inflamatórios e enzimas proteolíticas que induzem o dano gástrico. Logo, os mecanismos de defesa falham, ou seja, neutrófilos treinados para atuar no local da infecção são incapazes de erradicar a bactéria e desta forma se estabelece uma gastrite crônica, levando a uma produção contínua de IL-8 e ativação constante de neutrófilos, que produzem radicais livres e liberam enzimas lisossomais colaborando para a lesão gástrica (CRABTREE; LINDLEY, 1994).

A resposta inflamatória induzida pela infecção por este patógeno depende da capacidade de resposta do hospedeiro e da atividade bacteriana (ISRAEL; PEEK, 2001). Nesses processos são gerados radicais livres, por diferentes fagócitos, tais como neutrófilos, macrófagos e eosinófilos, em resposta a mediadores pro-inflamatórios e produtos da parede celular bacteriana (SOKOL; HOFFENBERG, 1997). Os radicais livres reagem com o DNA podendo induzir alterações de protooncogenes, que são capazes de interagir com moléculas de DNA e convertel-as em células neoplásicas (DRAKE, *et al.*, 1996).

Nesse sentido vale a pena ressaltar que, a presença de *H. pylori* também induz alterações histológicas na mucosa gástrica devido à resposta inflamatória (ISRAEL; PEEK, 2001). Estudo realizado por Baik *et al.*, 1996 mostraram altos níveis de danos oxidativos no DNA de células da mucosa gástrica na fase precoce de infecção por esta bactéria.

Durante o processo de inflamação são geradas ERO e ERN que atacam o *H. pylori*. É importante ressaltar que a maioria dos danos causados pelas gastrites é devido a reações oxidativas e nitrosativas, que são nocivas aos sistemas biológicos (BKAI, *et al.*, 1996).

Após a exposição ao *H. pylori* as células epiteliais gástricas aumentam a secreção de superóxido e em consequência ocorre a expressão da citotoxina Cag A

que está relacionada com a gastrite mais grave (BAGCHI; BHATTACHARYA; STOHS, 2002; BAGCHI *et al.*, 2002; KAWAHARA *et al.*, 2001; NILSSON *et al.*, 2003). Contudo, estes microrganismos possuem mecanismos capazes de minimizar os efeitos deletérios oriundos dessas espécies reativas, como a presença de enzimas como a SOD (superóxido dismutase) e a catalase (WANG, ALAMURI, MAIER, 2006).

A infecção por *H. pylori* também estimula a produção de peróxido de hidrogênio pelas células epiteliais gástricas (CHATUEVEDI, *et al.*, 2011). Foram encontrados altos níveis de danos oxidativos no DNA de células da mucosa gástrica na fase precoce da infecção por *H. pylori*. Alguns autores acreditam que esse fato seja o denominador comum entre a gastrite crônica e o câncer gástrico (BKAI *et al.*, 1996).

Pessoas infectadas por *H. pylori* tem em sua mucosa gástrica concentrações elevadas de ERO o que confirma a persistência no local da infecção (DAVIS *et al.*, 1994). Em virtude desse fato é necessário que, enzimas antioxidantes atuem para combater a infecção.

A Catalase atua na neutralização da ação oxidativa tóxica de radicais livres conferindo a bactéria proteção contra a atividade dos macrófagos e neutrófilos polimorfonucleares, evitando assim uma resposta inflamatória eficaz do hospedeiro (DUNN; COHEN; BLASER, 1997). Ela exerce papel importante na colonização protegendo a bactéria contra os feitos danosos dos metabólitos de peróxido de hidrogênio produzidos pelos neutrófilos (MARSHALL, 1991).

Os altos níveis de NO podem favorecer o acúmulo de mutações, por mecanismos que levam a inibição de enzimas do sistema de reparo, que são responsáveis por mais de 95% da atividade da via de reparo, também pode levar a inativação de processos de apoptose pela nitrosilação de proteínas pró-apoptóticas, como a p53 e caspases, ocasionando a sobrevivência de celular que causem danos ao DNA (JAISWAL *et al.*, 2000).

È importante ressaltar que, além destes outros elementos o *H. pylori* também está envolvido na produção de MPO pelas células da mucosa de pessoas infectadas. Esse patógeno induz a infiltração e ativação de neutrófilos e macrófagos, os principais causadores de danos nos tecidos inflamados. Pacientes infectados por esta bactéria mostram quantidades elevadas de MPO, este

pode atuar como marcador para neutrófilos. O aumento nos níveis de MPO pode contribuir para lesões nos tecidos (WANG *et al.*, 2008).



## 2. JUSTIFICATIVA

Tem sido demonstrado que a infecção pelo *H. pylori* aumenta o estresse oxidativo e o processo inflamatório, entretanto existem poucos estudos na literatura conduzidos em crianças e todos avaliam indivíduos com sintomas gástricos que se submeteram à endoscopia digestiva alta. Realizar estudos em crianças saudáveis da comunidade infectadas por *H. pylori* é uma boa oportunidade para se avaliar a associação da infecção com o estresse oxidativo antes do aparecimento de doenças específicas, uma vez que, a bactéria é adquirida na infância e está associada ao surgimento de doenças gástricas como gastrite, úlcera e câncer gástrico.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Avaliar se os marcadores séricos do estresse oxidativo estão associados com a infecção pelo *H.pylori* em crianças e adolescentes residentes na comunidade Urbana Parque Universitário, Fortaleza Ceará Brasil.

#### 3.2 Específicos

Avaliar se a infecção do *H.pylori* está associada com maiores níveis de concentrações séricas do antioxidante catalase e GSH reduzido.

Averiguar se existe associação entre as concentrações séricas do oxidante MDA e a infecção pelo *H. pylori*.

Determinar se a infecção pelo *H.pylori* aumenta a atividade sérica da enzima MPO.

Avaliar, de forma indireta através da determinação de nitrato e nitrito, se as concentrações séricas do radical livre óxido nítrico está aumentada em indivíduos infectados por *H. pylori*.

Verificar se os níveis séricos dos antioxidantes e oxidantes se relacionam com o gênero e a idade dos indivíduos.

## **4. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Casuística**

Foram incluídos no estudo, crianças e adolescentes, residentes na comunidade Parque Universitários, na cidade de Fortaleza, que participaram de outros estudos epidemiológicos realizados pelo nosso grupo em 2010 (QUEIROZ *et al.*, 2012).

Os pais ou responsáveis que aceitaram participar do estudo foram entrevistados por agentes de saúde, e responderam um questionário (ANEXO A), onde foram obtidas as seguintes informações: idade, sexo, grau de instrução, fonte de água, hábitos de higiene, condições hidrossanitárias, e agrupamento familiar (número de pessoas no domicílio, número de crianças por domicílio, número de compartimentos no domicílio), dor no estômago, diarreia e vômito. Todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo não haviam feito uso de medicamentos antimicrobianos nos últimos seis meses. Também foram mensurados, coleta de sangue e teste respiratório para detecção da infecção por *H. pylori*.

Os experimentos de dosagem de GSH-Rd, MDA, óxido nítrico (nitrito/nitrato), MPO e proteínas totais foram realizados no Laboratório de Gastroenterologia e a leitura dos resultados em leitor de microplaca no Laboratório de produtos naturais (LPN). Já o experimento e a leitura dos resultados da catalase foram realizados no LPN.

### **4.2 Desenho do estudo**

Estudo do tipo descritivo e transversal.

### **4.3 Local do estudo**

Comunidade Parque Universitário, (Fortaleza, - Ceará). Trata-se de uma comunidade de baixa renda de aproximadamente mil casas e 3826 habitantes com condições hidrossanitárias e renda homogênea.

#### **4.4 Seleção dos indivíduos**

A amostra populacional estudada foi composta por 134 indivíduos, sendo dividido em dois grupos, crianças que tinham de 8 a 12 anos incompletos e adolescentes de 12 a 18 anos incompletos, o grupo não se conhecia o status de infecção por *H. pylori*.

É importante ressaltar que no Brasil, o Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), Lei 8.069, de 1990, considera criança o indivíduo até 12 anos de idade incompletos e define a adolescência como a faixa etária de 12 a 18 anos de idade incompletos (artigo 2º).

##### **4.4.1 Critérios de inclusão**

- Crianças ou adolescentes com idade até 18 anos de ambos sexos
- Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

##### **4.4.2 Critérios de exclusão**

- Gravidez ou lactação;
- Pacientes que tenham realizado tratamento prévio para erradicação do *H. pylori*.
- História de úlcera péptica
- Uso crônico de medicamentos
- Insuficiência Hepática
- Insuficiência renal
- Diarréia crônica
- Irregularidade menstrual

#### **4.5 Protocolo do estudo**

O estudo foi submetido à análise e aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa (ANEXO B), conforme a Resolução 466/12, envolvendo a pesquisa com seres humanos. Todos os participantes e/ou responsáveis por estes, receberam

informações sobre o estudo em questão, fornecendo consentimento por escrito para a realização do mesmo (ANEXO C).

#### **4.6 Critério de diagnóstico para infecção por *H. pylori***

Para diagnóstico da infecção por *H. pylori* foi realizado o Teste Respiratório, onde o participante ficou em jejum prévio de 6 horas, após esse período soprou em um balão próprio, em seguida ingeriu 200 ml de suco de laranja contendo ureia marcada com C<sup>13</sup> e, após 30 minutos da ingestão do suco, soprou em outro balão. As amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Pesquisa Bacteriológica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais-Belo Horizonte-Brasil.

A concentração do C<sup>13</sup> respiratório foi analisada pelo Espectômetro Infravermelho não Dispersível (IRIS Analysator, Wagner Analysen Technik, Worpswede, Germany). O teste foi realizado seguindo as instruções do fabricante, sendo considerado positivo quando o valor do C<sup>13</sup> sobre a linha de base era maior que 5%, de acordo com protocolos validados previamente (HILDEBRAND *et al.*, 1997).

#### **4.7 Coleta de sangue**

Foram colhidas 04 amostras de sangue contendo 05 ml em cada tubo. Duas amostras de sangue em tubos com heparina e duas em tubo sem heparina. Foram obtidos soro, plasma e sangue, estes foram aliquotados e estocados em freezer a -80°C.

#### **4.8 Determinação das concentrações séricas de Glutathiona reduzida (GSH)**

Os níveis de Glutathiona reduzida foram avaliados utilizando o ensaio para determinação de grupos sulfidrilicos não proteicos (NP-SH) (SEDLAK; LINDSAY, 1968). Utilizou-se 100 µl de soro, no qual foram adicionados 80 µl de H<sub>2</sub>O destilada e 20 µl de ácido tricloroacético a 50% para precipitação das proteínas. Depois dessa etapa o material foi centrifugado por 15 minutos em rotação de 3000 rpm a uma

temperatura de 4°C. Em seguida, novas alíquotas de 200 µl do sobrenadante foram misturados a 200 µl de tampão TRIS com concentração de 0.4 M, pH 8.9 e com 5 µl de 5,5-dithiobis-2-nitro-benzoic acid (DTNB) e vortexadas por 40 segundos. A absorbância foi determinada a 412 nm em leitor de microplaca. A concentração de GSH foi expressa em µmol/ml de soro a partir de uma curva padrão.

#### **4.9 Determinação das concentrações sérica de Malondialdeído (MDA)**

Os níveis séricos de MDA foram determinados segundo Esterbauer e Cheeseman (1990) por meio de ensaio calorimétrico conforme descrito no Kit de Peroxidação Lipídica – MDA (Sigma, MAK085). Inicialmente 10 µl de soro foi inserido em microtubo contendo 50 µl de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 42nM), sendo homogeneizados levemente. Em seguida, adicionou-se 125 µl de ácido fosfotúngstico, a solução foi misturada com auxílio de um vórtex e incubada em temperatura ambiente por 5 min. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (13000 g, 5 min, 4°C). Após essa etapa o sobrenadante foi descartado, o pellet foi ressuscitado com solução de BHT (0,66 µl de BHT: 33,3 µl de H<sub>2</sub>O ultrapura) e foi transferido para um novo microtubo contendo 32,6 µl de H<sub>2</sub>O ultrapura. Antes de formar o complexo TBA (ácido tiobarbitúrico) - MDA, a curva padrão foi preparada adicionando em um microtubo 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 e 10 µl de MDA (2mM) para um volume total de 200 µl correspondendo, respectivamente, as seguintes concentrações de MDA: 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 nM. Após esta etapa, Adicionou-se 200 µl de TBA em cada microtubo contendo as amostras e padrões e em seguida foram incubadas no banho maria a 95°C por 60 min. Decorrido este tempo, as amostras foram inseridas no gelo por 10 min. Posteriormente 200 µl de cada reação foi pipetada na placa e a absorbância foi determinada a 532 nm, em leitor de microplaca. A concentração sérica total de MDA foi expressa em nM/µl (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990).

#### **4. 10 Determinação das concentrações séricas de Proteínas Totais no soro**

O método de Lowry *et al.* (1951) é baseado na complexação do cobre em meio alcalino formando uma coproteína de cor azul, lido leitor de microplaca. Os

íons cobre, em meio alcalino, reagem com as ligações peptídicas das proteínas, formando um complexo de cor púrpura proporcional à concentração de proteínas presentes na amostra. A albumina bovina é utilizada como padrão (LOWRY *et al.*, 1951). Observação essa determinação das proteínas totais é utilizada no cálculo para a determinação da atividade sérica da catalase.

#### **4.11 Determinação da atividade sérica de Catalase**

Atividade enzimática da catalase foi avaliada de acordo com o método espectrofotométrico de Beers e Sizer (1952). Uma solução substrato de peróxido de hidrogênio 0,05 M foi preparada com 0,05 M de tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (fosfato de potássio), pH 7,4 em água destilada. Em seguida 0,01 mL de soro foi misturado com 1 mL de solução substrato e os níveis de peróxido de hidrogênio foram determinados em 240 nm por seis minutos em espectrofotômetro. Uma curva de decaimento foi construída e a atividade foi expressa em nMol/min.proteínas totais (BEERS; SIZER, 1952).

#### **4.12 Determinação das concentrações séricas de Nitrito e Nitrato**

As amostras de soro foram colhidas para quantificar os níveis nitrato/nitrito usando o método de Griess (Guevara *et al.*, 1998). Primeiramente prepara-se o reagente de Griess (sulfanilamida a 1% e 0,1% de dicloridrato de etilenodiamina naftilo em ácido fosfórico a 5%), e a concentração total de nitrito foi avaliada através da sua absorvância a 540 nm em leitor de microplaca, atribuído à reação de Griess. Uma curva de calibração foi obtido através da incubação de nitrito de sódio (10 a 200  $\mu\text{M}$ ) com o reagente de Griess. Níveis de nitrato/nitrito foram expressos como micromole por mililitro de soro ( $\mu\text{M}/\text{mL}$ ) (GUEVARA *et al.*, 1998).

#### **4.13 Determinação da atividade sérica de Mieloperoxidase (MPO)**

A atividade de MPO sérica foi determinada utilizando o método descrito por Klebanoff e Clark; a velocidade de formação do produto de oxidação laranja-amarelado de o-dianisidina e MPO na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi medida a 460 nm em leitor de microplaca. Uma unidade de MPO foi definida como a quantidade

necessária para degradar 1 mmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto a 25 ° C. Para o cálculo utilizou-se o coeficiente de extinção molar de  $1,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  de 0-dianisidina oxidada. A actividade de MPO foi expressa em unidades por litro de soro (U / L) (KLEBANOFF; CLARK, 1978).

#### **4.14 Análise estatística**

Os dados coletados foram inicialmente tabulados em planilha do programa Excel®. Para análise estatística dos dados, foi utilizado o software SPSS® versão 22.0 (Nova York, EUA). A análise estatística foi realizada por meio da Análise Descritiva, sendo os dados analisados comparando as variáveis qualitativas pelos testes  $\chi^2$  e exato de Fischer. Na análise dos resultados, as variáveis eram representadas por frequências absolutas (n) e relativas (%). Para efeito de significância estatística foi considerado  $p < 0,05$ . Foram realizados testes não paramétricos em amostras anormais e também Teste de Mann-Whitney de amostras independentes.



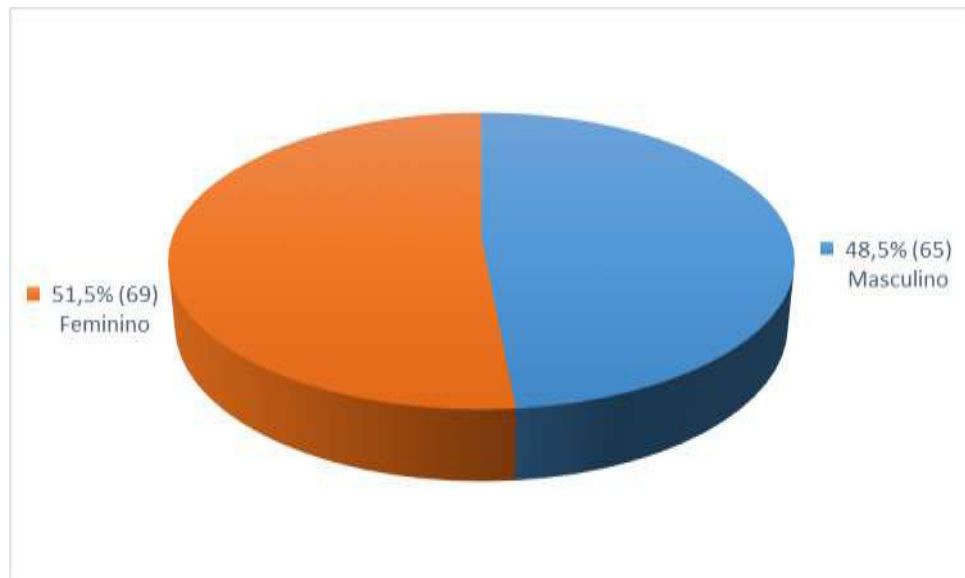
## 5. RESULTADOS

### 5.1 Caracterização da população estudada

#### 5.1.1 Distribuição do grupo em função do gênero

Participaram desse estudo 134 pessoas, divididas entre crianças que tinham idade entre 8 e 12 anos incompletos 36,6% (49/134) e acima de 12 anos a 18 anos incompletos, com 63,4% (85/134). Em relação ao gênero foi encontrado que 48,5% (65/134) eram do gênero masculino e 51,5% (69/134) do gênero feminino (Gráfico 1).

**Gráfico 1** - Distribuição do grupo em função do gênero



Fonte: Elaborada pela autora.

#### 5.1.2 Dados Socio-epidemiológicos

Quanto a quantidade de anos de estudo 85,1% (114/134) permaneceram na escola por até 9 anos de estudo e 14,9% (20/134) permaneceram por mais de 9 anos. Já em relação a renda familiar, 94,8% (127/134) a renda da família é de até 2 salários mínimos e 5,2% (7/134) a renda ultrapassa 2 salários, conforme tabela 2.

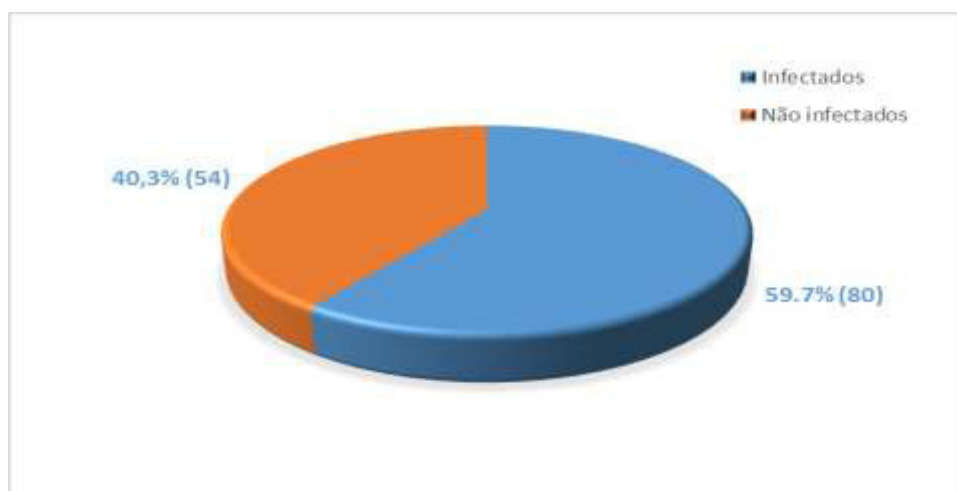
<b>Tabela 2. Dados Socio-epidemiológicos</b>		
	<b>n=134</b>	<b>(%)</b>
<b>Gênero</b>		
Masculino	65	48,5
Feminino	69	51,5
<b>Faixa etária</b>		
Abaixo de 12 anos	49	36,6
Acima de 12 anos	85	63,4
<b>Anos de Estudo</b>		
Até 9 anos	114	85,1
Acima de 9 anos	20	14,9
<b>Renda Familiar</b>		
Até de 2 salários	127	94,8
Acima de 2 salários	7	5,2

Fonte: Elaborada pelo autora.

## 5.2 Distribuição da população em função do Diagnóstico por *H. pylori*

O gráfico 2 mostra a divisão da população do estudo em relação à infecção por *Helicobacter pylori*. Das 134 pessoas, 59,7% (80/134) foram positivas e 40,2% (54/134) são negativas para a presença do *H. pylori* respectivamente.

**Gráfico 2** - Distribuição da população em função do diagnóstico por *H. pylori*

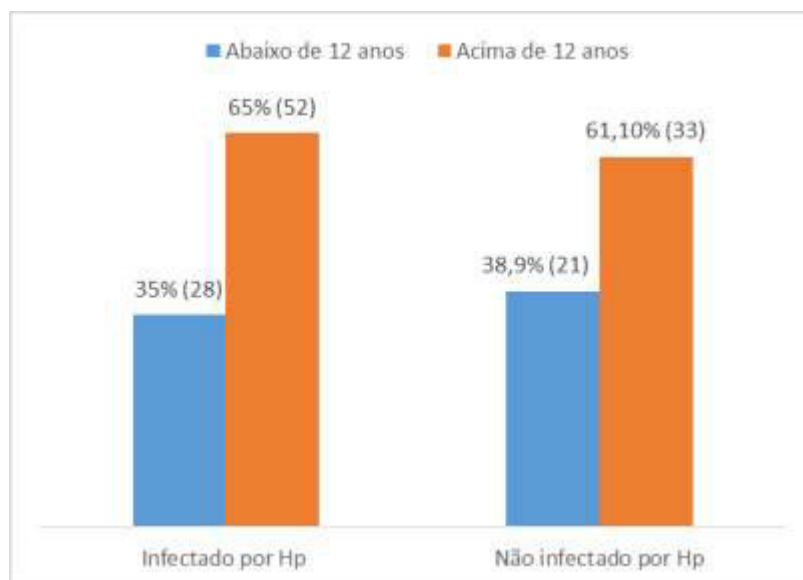


Fonte: Elaborada pela autora.

### 5.3 Associação entre infectados e não infectados pelo *H. pylori* e a faixa etária.

No gráfico 3 demonstra a relação da infecção pelo *H. pylori* com a faixa etária, observou-se que existiam no grupo de pessoas infectadas 35% (28/80) com idade abaixo de 12 anos e 65% (52/80) com idade acima de 12 anos. Já no grupo de pessoas não infectadas 38,9% (21/54) tinham idade abaixo de 12 anos e 61,1% (33/54) com idade acima de 12 anos.

**Gráfico 3** - Associação entre os grupos de indivíduos infectados e não infectados por *H. pylori* e a faixa etária.



Fonte: Elaborada pela autora.

### 5.4 Dados Epidemiológicos associados a infecção por *H. pylori*

A tabela 3 mostra que dentre os indivíduos positivos para o *H. pylori* foi observado que, 53,8% (43/80) eram do sexo masculino e 46,3% (37/80) do gênero feminino. Já nos indivíduos negativos foi observado que 40,7% (22/54) eram do gênero masculino e 59% (32/54) do gênero feminino, onde não houve diferença significativa ( $p=0,161$ ). Quando relacionada à renda com a presença de infecção observou-se que 95% (76/80) recebiam até 2 salários mínimos, e 5,0% (4/80) recebiam mais de 2 salários mínimos. Já a renda familiar foi de 94,4% (51/54) recebiam até 2 salário e 5,6% (3/54) recebiam entre mais 2 salários, não havendo diferença significativa entre os grupos ( $p=0,887$ ).

A tabela 3 também apresenta a associação entre o número de pessoas que residem na mesma casa e a presença de infecção demonstrando que 38,8% (31/80) dividiam a mesma casa com 2 a 5 pessoas, 41,3% (33/80) dividiam com 6 a 9 indivíduos e 20,0% (16/80) compartilhavam a mesma residência com mais de 10 pessoas. Já no grupo não infectado podemos observar que 53,7% (29/54) dividiam a mesma casa com 2 a 5 pessoas, 37,0% (20/54) compartilhavam o mesmo ambiente com 6 a 9 pessoas e 9,3% (5/54) moravam na mesma casa com mais de 10 pessoas ( $p=0,127$ ).

A tabela 3 também mostra a associação entre o tipo de água ingerida pelos indivíduos com a presença ou ausência da infecção por *H. pylori*. No grupo de infectados pela bactéria foi visto que 32,5% (26/80) não ingeriam água filtrada. Já no grupo de indivíduos não infectados por este patógeno 64,5% (35/54) também que não faziam ingestão de água filtrada. Não sendo vista associação significativa.

**Tabela 3. Dados Epidemiológicos associados a infecção por *H. pylori***

	HP+ (n = 80)		HP- (n = 54)		P
	N	(%)	N	(%)	
<b>Gênero</b>					
Masculino	43	53,8	22	40,7	0,161
Feminino	37	46,3	32	59,3	
<b>Escolaridade</b>					
Até 9 anos de estudo	70	87,5	44	81,5	0,338
Acima de 9 anos de estudo	10	12,5	10	18,5	
<b>Faixa etária</b>					
Abaixo de 12 anos	28	35,0	21	38,9	0,647
Acima de 12 anos	52	65,0	33	61,1	
<b>Renda</b>					
Até 2 salário mínimos	76	95,0	51	94,4	0,887
Acima de 2 Salários mínimos	4	5,0	3	5,6	
<b>Nº de pessoas que residem na mesma casa</b>					
2 a 5	31	38,8	29	53,7	0,127
6 a 9	33	41,3	20	37,0	
Mais de 10	16	20,0	5	9,3	
<b>Tipo de água que ingere</b>					
Filtrada	26	32,5	19	35,2	0,747
Não filtrada	54	67,5	35	64,8	

Fonte: Elaborada pela autora.

### 5.5 Associação entre sintomas e o diagnóstico de *H. pylori*

A tabela 6 exibe a associação entre alguns sintomas gastrointestinais com indivíduos infectados ou não pelo *H. pylori*. Pode-se observar que a maioria dos indivíduos desse estudo não apresentavam sintomas quando relacionados com a presença da infecção.

A associação realizada entre o grupo de indivíduos infetados pela bactéria e o sintoma dor no abdominal mostrou que 71,3% (57/80) não referiram esse sintoma. Já no grupo de indivíduos não infectados por este patógeno foi observado que 34% (63,0%) também não apresentavam esse sintoma, não tendo associação significativa ( $p=0,313$ )

Quando foi avaliado com a diarreia foi verificado que no grupo de indivíduos infectados pelo *H. pylori* 10,0% (8/80) apresentavam esse sintoma e que 90,0% (72/80) não apresentavam tal característica. Já o grupo sem esse patógeno mostrou que 20,4% (11/54) tinham diarreia e 79,6% (43/54) não apresentavam, a significância não foi observada nesse grupo com valor de  $p=0,091$ . Outro sintoma foi vômito onde no grupo de pessoas infectadas 5,0% (4/80) sentiam e 95,0% (76/80) não. No grupo sem a infecção foi visto que 18,5% (10/54) apresentavam esse sintoma e 81,5% (44/54) não. A associação entre essas variáveis mostrou significância com valor de  $p=0,012$ .

<b>Tabela 6: Associação entre alguns sintomas gastrointestinais e Diagnóstico de <i>H. pylori</i></b>					
	Hp+ (n = 80)		Hp - (n = 54)		P
	N	(%)	N	(%)	
<b>Dor abdominal</b>					
Sim	23	28,8	20	37,0	0,313
Não	57	71,3	34	63,0	
<b>Diarreia</b>					
Sim	8	10,0	11	20,4	0,091
Não	72	90,0	43	79,6	
<b>Vômito</b>					
Sim	4	5,0	10	18,5	0,012*
Não	76	95,0	44	81,5	

Fonte: Elaborada pela autora.

\*  $p<0,05$ =significante

## 5.6 Relação entre os marcadores de estresse oxidativo com o gênero e a Faixa etária

### 5.6.1 Marcadores do Estresse oxidativo e o gênero

A tabela 4 mostra a associação entre a atividade de alguns marcadores do Estresse Oxidativo no soro de pessoas infectadas ou não pelo *H. pylori* com o gênero masculino e feminino. As dosagens séricas de MPO apresentaram níveis mais elevados nos indivíduos do sexo feminino em relação aos do sexo masculino ( $p=0,033$ ), no entanto não foi encontrada diferença significativa quando comparados os níveis séricos de Catalase ( $p=0,330$ ), GSH ( $p=0,463$ ), Óxido nítrico ( $0,358$ ) e MDA ( $p= 0,163$ ) entre os grupos de indivíduos infectados e não infectados pelo *H. pylori*.

**Tabela 4. Associação entre os marcadores do estresse oxidativo e o gênero**

Marcadores	Gênero				P
	Masculino (n=65)		Feminino (n=69)		
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Catalase	2,762	3,295	1,881	1,570	0,330
GSH	89,795	122,280	81,415	92,358	0,463
Óxido nítrico	0,112	0,002	0,113	0,003	0,358
MDA	0,429	0,358	0,377	0,335	0,163
MPO	3,362	4,540	3,970	4,115	0,033*

Fonte: Elaborada pela autora.

\*  $p<0,05$ =significância

### 5.6.2 Marcadores do Estresse oxidativo e a faixa etária

A tabela 5 mostra a associação entre a atividade de alguns marcadores do Estresse Oxidativo no soro de pessoas infectadas ou não pelo *H. pylori* de acordo com a faixa etária abaixo e acima de 12 anos. Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes no seguinte marcador MPO ( $p=0,029$ ), sendo mais alta em adolescentes com idade acima de 12 anos. Quando comparados os grupos de indivíduos com idade abaixo de 12 anos e acima de 12 anos, para Catalase ( $p=0,773$ ), GSH ( $p=0,453$ ), Óxido nítrico ( $0,755$ ) e MDA ( $p= 0,362$ ) não foram encontradas diferenças significantes quando associados com esses grupos.

**Tabela 5. Associação entre os marcadores do estresse oxidativo e a Faixa etária.**

Marcadores	Faixa etária				P
	Abaixo de 12 anos (n=65)		Acima de 12 anos (n=69)		
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Catalase	2,578	3,306	2,153	2,065	0,773
GSH	94,782	113,479	80,118	104,343	0,453
Óxido nítrico	0,113	0,002	0,113	0,002	0,755
MDA	0,433	0,388	0,384	0,320	0,362
MPO	2,379	2,073	4,423	5,056	0,029*

Fonte: Elaborada pela autora

\*  $p < 0,05$  =significante

### 5.7 Associação entre as concentrações séricas dos marcadores do Estresse Oxidativo e a infecção por *H. pylori*.

A tabela 7 apresenta a associação entre a atividade de alguns marcadores do Estresse Oxidativo no soro de pessoas infectadas pelo *H. pylori* ou não infectadas. Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes nos seguintes marcadores MDA ( $p=0,001$ ), Catalase ( $p=0,010$ ) e NO ( $p=0,001$ ) quando comparados os grupos de indivíduos infectados e não infectados pelo *H. pylori* para GSH ( $p=0,363$ ), e MPO ( $p=0,295$ ) não foram encontradas diferenças significantes quando associados com os grupos de pessoas infectadas ou não.

**Tabela 7. Concentrações séricas de GSH, MDA, NO, PT e atividade serica da CAT e MPO de indivíduos infectados (n=80) e não infectados (n=54) pelo *H. pylori***

	GSH ( $\mu\text{mol/ml}$ )	MDA (nM/ $\mu\text{l}$ )	CAT (nMol/min.pt)	NO ( $\mu\text{M/mm}$ )	MPO (U / l)
<i>H. pylori</i> + (n=80)	92,3 $\pm$ 117,6	0,49 $\pm$ 0,39	2,72 $\pm$ 2,90	0,111 $\pm$ 0,00	4,33 $\pm$ 5,16
<i>H. pylori</i> – (n=54)	75,4 $\pm$ 90,6	0,27 $\pm$ 0,19	1,69 $\pm$ 1,88	0,115 $\pm$ 0,01	3,22 $\pm$ 3,61
P	0,363	0,001*	0,010*	0,001*	0,295

Fonte: Elaborada pela autora

Média $\pm$ Desvio padrão

\* $p < 0,05$

## 6. DISCUSSÃO

A infecção pelo *H. pylori* é adquirida durante a infância e está associada a um risco significativo de morbidade ao longo da vida (KINDERMANN; LOPES, 2009). Ela induz uma dinâmica reposta imunecelular inata, tendo como um dos maiores componentes o *burst* oxidativo das células fagocitárias como macrófagos, e neutrófilos, ocorrendo produção de EROs que na tentativa de controlar esse patógeno, desencadeiam um processo inflamatório crônico (RATH *et al.*, 2015).

A maioria dos estudos avaliando o estresse oxidativo e *H. pylori* tem sido realizado em adultos (NAVVABI *et al.*, 2013), poucos estudos têm sido conduzido na infância e adolescência principalmente em indivíduos da comunidade que não foram procurar atendimento médico por sintomas gástricos. O presente estudo portanto avalia o possível efeito da infecção do *H.pylori* nas concentrações séricas de marcadores de estresse oxidativo e atividade da MPO em crianças e adolescentes residentes em uma comunidade urbana, Parque Universitária Valter Cantídio, em Fortaleza Nordeste do Brasil. Segundo os questionários aplicados, mais de noventa por cento das famílias residentes na comunidade Parque Universitário têm renda familiar em torno de dois salários mínimos. Não houve diferença significativa entre os grupos de indivíduos com ou sem infecção por *H.pylori* em relação ao número de pessoas que residiam na mesma casa, tipo de água ingerida, gênero o que demonstra a homogeneidade da amostra estudada. A maioria dos indivíduos avaliados, em torno de 85 % estavam assintomáticos e os sintomas relatados foram esporádicos sendo os mais prevalentes vômitos e diarreia

A prevalência do *H.pylori* encontrada na comunidade Parque Universitário foi alta em torno de 59,7%, demonstrando que a infecção é adquirida na infância, sendo esse fato já descrito em estudos prévios realizados nessa comunidade pelo nosso grupo e em outras regiões em desenvolvimento. (MAHMUD; SHAH; ALI, 2015; RODRIGUES *et al.*, 2004).

A infecção por *H. pylori* induz a geração e liberação no meio extracelular de metabólitos de oxigênio em consequência da sua ligação á células fagocíticas. A peroxidação lipídica ocorre devido uma cascata de eventos bioquímicos resultantes da ação de radicais livres sobre os lipídeos insaturados das membranas celulares, levando à destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e à morte celular (BENZIE, 1996). O aumento dos níveis de MDA como



produtos da peroxidação lipídica tem sido reportada como índice de geração de ERO e estresse oxidativo em várias afecções.

O presente estudo observou que a avaliação da peroxidação lipídica através da concentração sérica MDA está maior no grupo de indivíduos infectados por *H. pylori* em comparação com o grupo dos não infectados, havendo significativa associação com a infecção. Estudo realizado no Egito avaliando crianças diepépticas com idade variando entre 07 a 11 anos observou resultado semelhante, onde os níveis séricos e tissulares de MDA estavam aumentados em pacientes infectados pelo *H. pylori* (HAGAG *et al.*, 2017). Outro estudo realizado na Índia com adolescentes com idade entre 13 e 16 anos, relata níveis de MDA no plasma aumentados no grupo de pessoas infectadas por *H. pylori* e significativamente associado com a infecção (SOUNDARAVALLY., *et al.*, 2013). Estudos realizados em adultos em amostras de soro e tecido gástrico têm demonstrado associação significativa entre maiores concentrações de MDA e a infecção por *H.pylori* (NAVVABI *et al.*, 2013).

Como já mencionado, a infecção por *H. pylori* induz a geração e liberação no meio extracelular de metabólitos de oxigênio em consequência da sua ligação às células fagocíticas. Para sobreviver nesse ambiente o *H. pylori* desenvolveu alguns mecanismos defensivos para se proteger contra o estresse oxidativo, e colonizar o estômago. O *H.pylori* tem uma variedade de enzimas agindo como antioxidante para combater o efeito tóxico dos ERO tais quais catalase, superóxido dismutase dentre outras. (WANG *et al.*, 2008), dessa forma o excesso de ERO produzido leva somente a lesão das células do hospedeiro (DUNN; COHEN; BLASER, 1997).

No presente trabalho, foi avaliada catalase, enzima antioxidante que catalisa o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio neutralizando assim a ação tóxica do mesmo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Essa enzima mantém o ambiente estável para o crescimento da bactéria (JONES *et al.*, 1984). A atividade sérica se mostrou mais elevada e significativamente associada no grupo de pessoas infectadas pelo *H. pylori* em comparação com grupo não infectado. Estudo realizado no Egito em 2017 avaliando indivíduos com idade entre 7 a 11 anos demonstrou que as concentrações séricas de catalase também estão significativamente aumentadas nos pacientes em comparação com o grupo controle, assim como quando foi avaliado o GSH na mucosa gastrica desses pacientes (HAGAG *et al.*, 2017).

O GSH é um antioxidante cujo objetivo é limitar os níveis intracelulares de espécies reativas e controlar a ocorrência de danos às células (SHAMI; MOREIRA, 2004; BIANCHI; ANTUNES 1999). Alguns estudos tem mostrado que os níveis séricos do GSH-Rd estão em menor quantidade em pacientes infectados pela bactéria, como no estudo realizado por Hagag *et al.*, no Egito no ano de 2017 com 120 crianças com idade entre 7 e 11 anos, onde foi observado no soro que o valor do GSH estava baixo no grupo de pessoas infectadas. Quando esses mesmos autores realizaram outro estudo com a mesma população e o mesmo método, porém, na biópsia foi visto que, houve uma associação significativa apresentando valores menores de GSH em crianças infectadas (HAGAG *et al.*, 2017).

Nos adultos, estudo realizado em Israel com 47 pacientes portadores de gastrite demonstrou que as concentrações de GSH foram significativamente menores em pacientes infectados pelo *H. pylori* em comparação ao grupo controle. (SHIRIN *et al.*, 2001). Além disso, estudo proveniente do Irã avaliando as concentrações séricas de GSH em 150 pacientes portadores de gastrite com idade entre 30 a 50 anos observou que as concentrações séricas de GSH estavam diminuídas nos pacientes infectados por *H. pylori* em comparação com o grupo de pessoas não infectadas (NAVVABI *et al.*, 2103).

No presente estudo, a concentração sérica do GSH-Rd estava mais elevada nos indivíduos infectados por *H.pylori* que nos não infectados, porém sem significância estatística, diferentemente do que é descrito em estudos prévios realizados em adultos e crianças como já mencionado anteriormente. Entretanto, a amostra populacional avaliada nesse estudo é de crianças e adolescentes clinicamente saudáveis residentes em comunidades, ao contrário de todos os outros estudos em que foram avaliadas crianças ou adultos com dispepsia que iam realizar endoscopia. É possível que esses pacientes com o progredir da infecção por *H.pylori* venham a apresentar no futuro diminuição do GSH. Estudo experimental realizado em gerbil infectados por *H.pylori* verificaram que o GSH estava aumentado no tecido em estágios iniciais da infecção e diminuído com maior tempo de infecção (SUZUKI *et al.*, 1999).

O óxido nítrico é produzido a partir da L-arginina, por uma reação mediada pela enzima NO sintase constitutiva (c-NOS) e induzível (i-NOS). Ele atua no sistema imune, tendo um importante papel como mensageiro e modulador de diversos processos biológicos. Por outro lado, ele é potencialmente tóxico, sendo

presente em situações de estresse oxidativo, levando a uma deficiência do sistema imune (MONCADAS *et al.*, 1991; MARLETTA, 1993).

A síntese de óxido nítrico estimula a produção de ERNs que são liberadas durante processo inflamatório, eles agem inibindo as enzimas envolvidas no sistema de reparo causando danos ao DNA (JAISWAL *et al.*, 2000). O efeito antimicrobiano do óxido nítrico é uma parte importante da imunidade inata. A infecção por *H. pylori* regula a síntese de NO indutor (iNOS) na mucosa gástrica, no entanto, a produção de NO do hospedeiro é inibida pela infecção, sugerindo que pode ser uma vantagem evolutiva na adaptação bem sucedida de *H. pylori* na mucosa gástrica (NATHAN; SHILOH, 2000). Os elementos derivados da degradação do óxido nítrico Nitrito e Nitrato, no presente estudo apresentaram níveis séricos significativamente menores no grupo de pessoas infectadas por *H. pylori* em comparação com o grupo sem esse patógeno. Esses resultados estão em consonância com estudo realizado no Egito com 120 crianças, no qual também foi observado que no soro apresentavam menores quantidades de óxido nítrico em comparação com o grupo controle (HAGAG., *et al.*, 2017).

A MPO é uma enzima oxidante presente abundantemente nos neutrófilos que ocasiona a peroxidação lipídica e inflamação celular (KLEBANOFF, 2005; HEINCKE, 1993). Demonstrou-se que a densidade de *H.pylori* e a infiltração de neutrófilos foram correlacionadas com o nível de MPO na mucosa gástrica (KIM *et al.*, 2000), além disso, é relatado que as atividades de MPO são significativamente maiores em *H. pylori* positivo do que em pacientes negativos (SAVANA *et al.*, 1997 ; Nazligul *et al.*, 2011), avaliando 30 pacientes com *H.pylori* positivo antes e após a erradicação de *H.pylori* relataram menor nível de MPO no soro de pacientes que erradicaram *H.pylori*. (NAZLIGUI *et al.*, 2011).

No presente estudo foi visto que a atividade sérica da MPO demonstrou uma tendência ao aumento no grupo de pessoas infectadas pela bactéria em comparação com o grupo não infectado, porém não apresentou significância estatística. Estudo semelhante foi realizado no ano de 2010 na Finlândia com crianças e jovens com idade entre 8 meses a 18 anos de ambos gêneros, onde foi visto que os níveis séricos de MPO se mostravam mais altos no grupo de pessoas infectadas por este patógeno, contudo, não observada associação significativa (RAUTELIN *et al.*, 2010). Outro estudo realizado em 2006 na Turquia, com 43

peças infectadas pela bactéria com idade entre 2 e 18 anos de ambos os sexos, que apresentavam algum sintoma gastrointestinal e foram submetidas a endoscopia digestiva alta, não foi verificada diferença significativa nos níveis de MPO no tecido gástrico no grupo de infectados em comparação com o grupo não infectado, segundo os autores isso ocorreu porque essa enzima sozinha não sofre modificações na presença de *H. pylori* e por esse motivo podem não ter papéis importantes na patogênese da doença gástrica relacionada à *H. pylori* em crianças (AKAM *et al.*, 2006).

Uma das limitações desse estudo foi ser desenvolvendo com indivíduos assintomáticos, já um ponto fraco foi o tamanho reduzido da amostra.

No presente estudo ficou claro que o estresse oxidativo começa a ocorrer nas fases iniciais da infecção, apresentando níveis com menores concentrações da catalase e maiores níveis de MDA, mostrando um desequilíbrio antioxidativo. A persistência do aumento das concentrações séricas de MDA é um fator preocupante, já que ele desencadeia um processo deletério para o organismo. Logo, sugere-se que novos estudos sejam realizados nessa vertente, visando minimizar futuras doenças mais grave como o câncer gástrico.

## 7. CONCLUSÕES

As concentrações séricas do oxidante MDA estavam maiores em indivíduos *H.pylori* positivo, e significativamente associado à infecção. A atividade sérica do antioxidante Catalase foi significativamente maior em indivíduos infectados e significativamente associada a presença do *H.pylori*.

As concentrações séricas do antioxidante GSH-Rd mostrou-se mais aumentada no grupo de indivíduos infectados pelo *H. pylori*, mas sem significância estatística.

A concentração do antioxidante óxido nítrico (nitrato e nitrito) estava menor no grupo de indivíduos infectados pelo *H. pylori*, e significativamente associado a presença da bactéria

A atividade do antioxidante MPO estava aumentada no grupo de indivíduos infectados pelo *H. pylori*, mas sem significância estatística.

A associação entre as concentrações séricas e atividade sérica dos marcadores respectivamente (GSH-Rd, MDA, óxido nítrico e Catalase) com a idade e o gênero não mostrou significância estatística. Já com a atividade da MPO quando relacionada com o gênero feminino e com idade maior de 12 anos foi visto uma tendência ao aumento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA DSP. Estresse oxidativo e alimentação. In: Tirapegui J. Nutrição: Fundamentos e aspectos atuais. 2a ed. São Paulo. **Editora Atheneu**, 2a ed. São Paulo. p. 181 -203, 2006.
- AKCAM, M. *et al.* Serum ferritin, vitamin B12, folate, and zinc levels in children infected with *Helicobacter pylori*. **Digestive diseases and sciences**, v. 52, n. 2, p. 405-410, 2007.
- AKCAM, M. *et al.* Myeloperoxidase, xanthine oxidase and superoxide dismutase in the gastric mucosa of *Helicobacter pylori* positive and negative pediatric patients. **Mol Cell Biochem.** n. 290, v. 1, p. 125-30, 2006.
- BAGCHI D.; BHATTACHARYA G.; STOHS S.J. Production of reactive oxygenspecies by gastric cells in association with *Helicobacter pylori*. **Free Radic Res.** n. 24, p. 1405–1412, 2002.
- BAGCHI D. *et al.* *Helicobacter pylori*-induced oxidative stress and DNA damage e in a primary culture of human gastric mucosal cells. **Dig Dis Sci.** n. 47, p. 1405–1412, 2002.
- BAGCHI D. *et al.* *Helicobacter pylori*: associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. **Rev Ci Med Biol**, v. 10, n. 3, p. 254-262, 2011.
- BARBOSA, K.B.F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr**, v. 23, n.4, p.629-643, 2010.
- BARBOSA, J. A.; SCHINONNI, M. I. *Helicobacter pylori*: Associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas.** v. 10, n. 3, p. 254-262, 2011.
- BASTOS, J. *et. al.* Sociodemographic determinants of prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in Portuguese adults. **Helicobacter**, v. 18, n. 6, p. 413-422, 2013.
- BENZIE, I.F.F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **Int. J. Food Sci. Nut**, v.47, p.233-261, 1996.
- BEERS R. F. Jr.; SIZER I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J. Biol. Chem.** n. 195, p. 133-140, 1952.
- BIANCHI MLP, ANTUNES LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev Nutr.**, n. 12, v. 12, p.123-30, 1999.
- BIZZOZERO, G. S. Presenza di batteri nelle ghiandole gastriche del cane. **Atti della Reale Accademia delle Scienze di Torino**, v.28, p.249, Itlaian, 1893.

BKAI S. C. *et al.*, Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. **Cancer Res.**, v. 56 p. 1279–1282, 1996.

BLASER, M. J.; BERG, D. E. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. **J Clin Invest**, v. 107, n. 7, p. 767-773, 2001.

BLASER, M. J.; ATHERTON, J. C. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. **J. Clin. Invest.**, v. 113, p. 321-333, 2004.

BODE, G. *et al.*, Ultrastructural localization of urease in outer membrane and periplasm of *Campylobacter pylori*. **J. Clin. Pathol.**, v. 42, p. 778-779, 1989.

BOOTH L. *et al.* Clinical importance of *Campylobacter pyloridis* and associated serum IgG and IgA antibody responses in patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy. **J Clin Pathol.** v. 39p. 215-219, 1986.

BROWN, L. M. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. **Epidemiol Ver.**, v. 22, p. 283-97, 2000.

BRUCE, E. D. Mecanismos patogênicos do *Helicobacter pylori*. **Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte**, v. 1: p.43-57, 1993.

BUI, D. *et al.* Serologic evidence for fecal-oral transmission of *Helicobacter pylori*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 1, p. 82-88, 2016.

BUJANOVER, Y. *et al.* *Helicobacter pylori* e doença péptica no paciente pediátrico. **Clin. Ped. Am. Norte**, n. 7, p. 215-35, 1997.

CABTREE J. E. *et al.* Systemic and mucosal humoral responses to *Helicobacter Pylori* in gastric cancer. **GUT**, n. 34, p. 1339-1343, 1993.

CABTREE J. E.; LINDLEY I. J. Mucosal interleukin-8 and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. **Eur J Gastroenterol.** n. 1, p. 33-8, 1994.

CADENAS E.; DAVIES K.J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. **Free Radic Biol Med.** n. 29, p. 222–30, 2000.

CADET, J.; DOUKI, T.; RAVANAT, J. L. Oxidatively generated base damage to cellular DNA. **Free Radic Biol Med**, v. 49, n. 1, p. 9-21, 2010.

CAPUTO, F.; VEGLIANTE, R.; GHIBELLI, L. Redox modulation of the DNA damage response. **Biochem Pharmacol**, v. 84, n. 10, p. 1292-306, 2012.

CARR, A. *et al.* Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species-reaction pathways and antioxidant protection. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 20, n. 7, p. 1716-1723, 2000.

- CARVALHO, A.S.T. *et al.* Diagnosis and distribution of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of symptomatic children. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 24, p.163-6, 1991.
- CRABTREE J.E.; LINDLEY I.J. Mucosal interleukin-8 and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. **Eur J Gastroenterol Hepatol.** n. 1, p. 33-8, 1994.
- CERQUEIRA N.F.; YOSHIDA W.B. Nitric oxide: review. **Acta Cir Bras.** v.17, n. 6, 2002.
- CHATGILIALOGLU, C. *et al.* Biomimetic models of radical stress and related biomarkers. **Chimia (Aarau)**, v. 66, n. 6, p. 368-71, 2012.
- CHATURVEDI R. *et al.*, Spermine oxidase mediates the gastric cancer risk associated with *Helicobacter pylori* CagA. **Gastroenterology**, v. 141, p. 1696–1708, 2011.
- CHANG V. *et al.* *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. **N. Engl J. Med**, n. 325, p. 1127-1131, 1991.
- CHIHUAILAF, R.H.; CONTRERAS, P.A.; WITWER, F.G. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal Pathogenesis of oxidative stress: Consequences and evaluation in animal health. **Vet. Méx.**, v. 33, p. 265, 2002.
- CHU, F. F. *et al.* Bacteria-induced intestinal cancer in mice with disrupted Gpx1 and Gpx2 genes. **Cancer Res.**,v. 64, p. 962-968, 2004.
- CHU, F. F.; DOROSHOW, J. H.; ESWORTHY, R. S. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. **J Biol Chem.**, v. 268, p. 2571- 2576, 1993.
- CIRCU, M. L.; AW, T. Y. Glutathione and modulation of cell apoptosis. **Biochim Biophys Acta**, v. 1823, n. 10, p. 1767-77, 2012.
- CLAYTON, C. L. *et al.* Sensitive detection of *Helicobacter pylori* by using polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 192–200, 1992.
- COELHO, L. G. V.; COELHO, M. C. F. de. Infecção por *Helicobacter pylori*. **Rev. Bras. Med.**,[S.l.], v. 62, n. 12, p. 80-87, dez 2005.
- COVACCI, A. *et al.* *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. **Science**, n. 284, p. 1328-33, 1999.
- COVACCI, A.; RAPPUOLI, R. Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins:Trojan horses for the host cell. **J. Exp. Med.**, n. 191, p. 587-92, 2000.
- CRABTREE, J. E. *et al.* Mucosal tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. **Gut**, v.32: p.1473-1477, 1991.



- CUTLER, A. F.; PRASAD, V. M.; SANTOGADE, P. Four-year trends in *Helicobacter pylori* IgG serology following successful eradication. **Am J Med**, v. 105, p. 18-20, 1998.
- DAVIES G. R. *et al.* *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. **Gut**, v. 35, p. 179–185, 1994.
- DEBELLIS, L. *et al.* *Helicobacter pylori* cytotoxin vacA increases alkaline secretion in gastric epithelial cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* v. 281, n. 6, p.1440-8, 2001.
- DIAZ VIVANCOS, P. *et al.* A nuclear glutathione cycle within the cell cycle. **Biochem J**, v. 431, n. 2, p.169-78, 2010.
- DING, S.Z. *et al.* *Helicobacter pylori* infection induces oxidative stress and programmed cell death in human gastric epithelial cells. **Infect Immun**, v. 75, n. 8, p. 4030-4039, 2007.
- DING, S. Z.; GOLDBERG, J. B.; HATAKEYAMA, M. *Helicobacter pylori* infection, oncogenic pathways and epigenetic mechanisms in gastric carcinogenesis. **Future Oncol.**, London, v. 6, n. 5, p. 851–862, May 2010.
- DOENGES, J. L. Spirochetes in the gastric glands of macacus rhesus and humans without definite history of related disease. *Proc. Soc. Exp. Med. Biol.*, v.38: p. 536-538, 1938.
- DOMINGUEZ, L.; SOSA-PEINADO, A.; HANSBERG, W. Catalase evolved to concentrate H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at its active site. **Arch Biochem Biophys**, v. 500, n. 1, p. 82-91, 2010.
- DDINE, L. C. *et al.* Factors associated with chronic gastritis in patients with presence and absence of *Helicobacter pylori*. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva** (São Paulo), v. 25, n. 2, p. 96-100, 2012.
- DORJI, D. *et al.* Epidemiology of *Helicobacter pylori* in Bhutan: the role of environment and Geographic location. **Helicobacter**, v. 19, n. 1, p. 69-73, 2014.
- DRAKE, I.M. *et al.* Ascorbic acid may protect against human gastric cancer by scavenging mucosal oxygen radicals. **Carcinogenesis**, n.17, v. 3, p. 559-62, 1996.
- DUNN, B. E; COHEN, H; BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 10, n. 4, p. 720-734, Oct. 1997.
- ERNST, P.B.; CROWE S.E.; REYES V. The immunopathogenesis of gastroduodenal disease associated with *Helicobacter pylori* infection. **Cur Op Gastroenterol**. v. 11p. 512-518, 1995.

- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 407-21, 1990.
- EUSEBI, L. H.; ZAGARI, R. M.; BAZZOLI, F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, v. 19, n. s1, p. 1-5, 2014.
- ERNST, P. B.; PEURA, D. A.; CROWE, S. E. The translation of *Helicobacter pylori* basic research to patient care. *Gastroenterology*, Baltimore, v. 130, n. 1, p. 188–206, Jan. 2006.
- EVERETT, S. M. *et al.* Levels of Malondialdehyde-Deoxyguanosine in the **Gastric Mucosa, Cancer Epidemiology, Biomarkers e Prevetion**, v. 10, n. 4, p. 369-376, 2001.
- FERREIRA ALA, MATSUBARA LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **RAMB.**, v. 43, n. 1, p. 61-8, 1997.
- FERWANA, M. *et al.* Accuracy of urea breath test in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis. **World J Gastroenterol**, v. 21, n. 4, p. 1305-14, 2015.
- FINKEL T, HOLBROOK NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing [Review]. **Nature**, n. 408. p. 239–47, 2000.
- FINKEL T. Oxidant signals and oxidative stress [Review]. **Curr Opin Cell Biol.**, n. 15, p.247–54, 2003.
- FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **J Exp Biol**, v. 201, n. Pt 8, p. 1203-9, 1998.
- GALPIN O.P.; WHITAKER C.J.; DUBIEL A.J. *Helicobacter pylori* infection and overcrowding in childhood. **Lancet** n. 339:p.619, 1992.
- GERHARD, M. *et al.* Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen adhesin. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 96, p. 12778-83, 1999.
- GEENEN, S. *et al.* Systems biology tools for toxicology. **Arch Toxicol**, v. 86, n. 8, p. 1251-71, 2012.
- GENTA R.M.; GRAHAM D.Y. *Helicobacter pylori*: the new bug on the (paraffin) block. **Virchows Arch.** v. 4252p. 339-347, 1994.
- GIL, Antonio Carlos. Como elaborar projetos de pesquisa. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2008.
- GISBERT J.P. A critical review of the diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterol y hepatol.**, n. 23, v. 3, p. 135-43, mar, 2000.

GHAFOURIFAR, P.; CADENAS, E. Mitochondrial nitric oxide synthase. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 26, p.190-195, 2005.

GONCALVES, M. H. R. B. *et al.* *Helicobacter pylori* virulence genes detected by string PCR in children from an urban community in northeastern Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 988-989, 2013.

GOODWIN, C. S. *Campylobacter pylori* become *Helicobacter pylori*. **Int J Bacteriol.**, v. 39, p. 353-405, 1989.

GOODGAME R.W, *et al.* Infectious gastritis. In: Surawicz C, Owen RL. **Gastrointestinal and hepatic infections**.v. 19951p. 47-72, 1995.

GOODWIN, C. S. *et al.* Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. **Internat. J. Syst. Bacteriol.**, v. 39, p. 397-405, 1989.

GOODMAN JK, *et al.* *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. **Am J Epidemiol** n. 144, p. 290-9, 1996.

GRAHAM, DY. Benefits from elimination of *Helicobacter pylori* infection include major reduction in the incidence of peptic ulcer disease, gastric cancer, and primary gastric lymphoma. **Preventive Medicine**, v. 23, p. 712-716, 1994.

GRAHAM D.Y. *et al.* Epidemiology of *Helicobacteri pylori* in na asymptomatic population in the United States. **Gastroenterology**. n. 100, p. 1495-501, 1991.

GRUNING, N. M. *et al.* Regulatory crosstalk of the metabolic network. **Trends Biochem Sci**, v. 35, n. 4, p. 220-7, 2010.

GUEVARA, I. *et al.* Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. **Clin. Chim. Acta**, v.274, n.2, p.177-188, 1998.

GUSTAFSON, J.; WELLING, D. "No Acid, no Ulcer" - 100 Years Later: A Review of the History of Peptic Ulcer Disease. **American College of Surgeons**, n. 1, p. 110-116, 2010.

GUZMÁN, M. El premio nobel de fisiología y medicina 2005. **Biomédica**, Bogotá, v. 26, n. 1, p. 7-8, mar, 2006.

HARDBOWER D. M. T. *et al.* Chronic inflammation and oxidative stress: the smoking gun for *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer? **Gut Microbes**. v. 4, n. 6, p. 475-485, 2013.

HAGAG, A. A. E. *et al.* Gastric Mucosal Oxidative Stress Markers in Children with *Helicobacter Pylori* Infection. **Infect Disord Drug Targets**, v. 2, n. 10, p. 1871526517666170502154350, 2017.

HAGAG, A. A. *et al.* Study of Serum Levels of some Oxidative Stress Markers in Children with *Helicobacter pylori* Infection. **Infect Disord Drug Targets**, v. 2, p. 2, 2017.

HALLIWELL B, WHITEMAN M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean [Review]. **Br J Pharmacol**, v. 142, p. 231–55, 2004.

HALLIWELL B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiol**. n. 141, p. 312-322, 2006.

HALLIWELL, B., *Br. Med. J.*, v. 307, p. 885, 1993.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 57, p. 715-725, 1993

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Oxygen is a toxic gas – an introduction to oxygen toxicity and reactive oxygen species. In: *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4. ed. **Oxford: University Press**, p.1-35, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. *Free Radical in Biology and Medicine* 4a ed. **Oxford: Oxford University Press**, p. 851, 2007.

HATZ R. A., Stomach immunology and *Helicobacter pylori* infection. **Cur Op Gastroenterol**. v. p. 993-1001, 1992.

HAZEL, S. L. *et al.* *Campylobacter pyloridis*: association with intracellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factor in colonization of the gastric epithelium. **J. Inf, Dis.**, v. 153: p. 658-663, 1986.

HEINECKE J.W, LI W, FRANCIS G. A, GOLDSTEIN J. A. Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase catalyzes the oxidative cross-linking of proteins. **J Clin Invest** n. 91, p. 2866-72, 1993.

HIDEKI, M. *et al.* Endoscopic cross-infection with *Helicobacter pylori*. **The Lancet**, p. 464, 1995.

HILDEBRAND, P., BEGLINGER, C. Nondispersive Infrared Spectrometry: A New Method for the Detection of *Helicobacter pylori* Infection with the C 13 – Urea- Breath Test. **Clinical Infectious Diseases**, v 25, p 1003-1005, 1997.

HUNT, R. H. *et al.* (Org.). WGO diretriz prática *Helicobacter pylori* em países em desenvolvimento. [S.l.], p. 1-30, Nov. 2006.

ISRAEL, D.A.; PEEK, R.M. Review article: pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, n.15, p. 1271-90, 2001.

ILVER, D. *et al.*, *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. **Science**, v. 279: p. 373-377, 1998.

JAISWAL, Meeta *et al.* Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. **Cancer research**, v. 60, n. 1, p. 184-190, 2000.

JAFAR *et al.* Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Children, a population-based cross-sectional study in West Iran. **Iran J Pediatric**. v. 23, n. 1, p. 13-18, 2013.

JONES, D. M. *et al.* Campylobacterlike organisms on the gastric mucosa: culture, histological and serological studies. **Journal of Clinical Pathology** n. 37, p. 1002-1006, 1984.

KATSURAHARA M. *et al.*, Reactive nitrogen species mediate DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. **Helicobacter**. n 14, p. 552–558, 2009.

KAWAHARA T. *et al.* Type I *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide stimulates Toll-like receptor4 and activates mitogen oxidase 1 in gastric pit cells. **Infect Immun**. n. 69, p. 4382–4389, 2001.

KESAVULU, M. M., *et al.*, Diabetes Research and Clinical Practice, v. 53, p. 33, 2001.

KLAUNIG J.E.; KAMENDULIS L.M. The role of oxidative stress in carcinogenesis. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**. n. 44, p. 239–67, 2004.

KLEBANOFF S. J.; CLARK R. A. The neutrophil: function and clinical disorders. Amsterdam, The Netherlands: **Elsevier/North Holland Biomedical Press**, p. 810, 1978.

KLEBANOFF S. J. Myeloperoxidase: friend and foe. **J Leukoc Biol**. n. 77, p. 598-625, 2005.

KIM, J. S. *et al.* *Helicobacter pylori* water-soluble surface proteins activate human neutrophils and up-regulate expression of CXC chemokines. **Dig Dis Sci**, v. 45, n. 1, p. 83-92, 2000.

KINDERMANN, A.; LOPES, A. I. *Helicobacter pylori* infection in pediatrics. **Helicobacter**, v. 1, p. 52-7, 2009.

KODAIRA, M. S.; ESCOBAR, A. M. U., de; GRISI, S. Aspectos epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 356-369, 2002.

KOWALTOWSKI, A. J. E. *et al.* Mitochondria and reactive oxygen species. **Free Radical Biology & Medicine**, n. 47, p. 333-343, 2009.

KRIENTIZ, W. Über das Auftreten von Spirochäten verschiedener Form in Mageninhalt bei Carcinoma Ventriculi. **Dtsch Med Wochenschr**, v. 28, p. 872, 1906.

KRYSTON, T. B. *et al.* Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. **Mutat Res**, v. 711, n. 1-2, p. 193-201, 2011.

KUSTERS JG, VAN VLIET AH, KUIPERS EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Ver.*, p. 449-90. 2006.

LEE, S. Y. *et al.* Validation of western *Helicobacter pylori* IgG antibody assays in Korean adults. **J Med Microbiol**, v. 64, n. 5, p. 513-8, 2015.

LERANG F *et al.*, Accuracy of seven different tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the impact of H2-receptor antagonists on test results. **Scand J Gastroenterol.**, v. 33, n. 4, p. 364-9, abr, 1998.

LIM, S. H. *et al.* Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in Korea: nationwide multicenter study over 13 years. **BMC gastroenterology**, v. 13, n. 1, p. 1, 2013.

LOGAN RP, WALKER MM. ABC of the upper gastrointestinal tract: Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Bmj**, v. 323, n. 7318, p. 920-2, oct, 2001.

LONGO D. *et al.*, Harrison's Principles of Internal Medicine. **Mc Graw Hill**. 18th ed. July, 2011.

LOPES, D. *et al.* Eradication of *Helicobacter pylori*: past, present and future. **Journal of Controlled Release**, v. 189, p. 169-186, 2014.

LOWRY. O. H. *et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, St. Louis, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUCZAJ, W.; SKRZYDLEWSKA, E. DNA damage caused by lipid peroxidation products. **Cell Mol Biol Lett**, v. 8, n. 2, p. 391-413, 2003.

MALATY, H.M. *et al.* Transmission of *Helicobacter pylori* infection. Studies in families of healthy individuals. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 26, n. 9, p. 927-32, 1991.

MALFERTHEINER P, *et al.* Management of *Helicobacter pylori* infection, the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. **Gut.**, v. 61, n.5, p. 646-64, mai, 2012.

MAHMUD S.; SHAH S. A. U. H.; ALI S. Frequency of *Helicobacter pylori* (HP) infection in children with recurrent abdominal pain (RAP). **Pak Armed Forces Med**, v. 65. n. 3, p. 358-62, 2015.

MARLETTA M.A. Nitric oxide synthase structure and mechanism. **J.Biol.Chem.** v. 268, n. 17, p. 12231-4, 1993.

MARSHALL, B. J. *et al.* Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. **Med J Aust**, v. 142, n. 8, p. 436-9. 1985.

MARSHALL, B. J.; WARREN, J. R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **The Lancet**, v. 323, n. 8390, p. 1311-1315, 1984.

MARSHALL, B. J.; WARREN, J. R.: Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. **Lancet**, v. 1, n. 8336, p. 1273-1275, 1983.

MARSHALL, B.; GOODWIN, C. S. Revised Nomenclature of *Campylobacter pyloridis*. *Int J Syst Bacteriol.*, v. 37, n. 1, p. 68, 1987.

MARSHALL, BJ *et al.*, Urease protects *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology*, v. 99, p. 697-702, 1990.

MARSHALL, B. J. Virulence and pathogenicity of *Helicobacter pylori*. **J Gastroenterol Hepatol**, v. 6, n. 2, p. 121-4, 1991.

MAYNARD S.; *et al.* Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. **Carcinogenesis**. n. 30, p. 2–10, 2009.

MATYSIAK-BUDNIK *et al.* *Helicobacter pylori* infection in eastern Europe: seroprevalence in the Polish population of lower Silesia. **Am J Gastroenterol**. n. 91p. 2513-5,1996.

MEISTER, A. Glutathione metabolism. **Methods Enzymol**, v. 251, p. 3-7, 1995.

MENTIS, A.; LEHOURS, P.; MEGRAUD, F. Epidemiology and Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, v. 20, s.1, p. 1-7, sep, 2015.

MIZUSHIMA, T. *et al.*, Clinical relevance of the babA2 genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. **J. Clin. Microbiology**. p. 2463-2465, 2001.

MONCADAS. *et al.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol. Reviews**, v. 42, n. 2, p. 109-42, 1991.

MONTECUCCO, C.; RAPPUOLI, R. Living Dangerously: How *Helicobacter pylori* Survives in the Human Stomach. **Mol. Cell Biol.**, v. 2, p. 457-466, 2001.

MORRIS, A.; NICHOLSON, G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. **Am J Gastroenterol**, v. 82, p. 192-9, 1987.

NAVVABI A. *ET al.* Effect of *Helicobacter pylori* infection on oxidative stresses in patients with chronic gastritis. **African Journal of Microbiology Research** n. 7, p. 50, 2013.

NATHAN, C.; SHILOH, M. U. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, n. 16, p. 8841-8, 2000.

NAZLIGUL Y. *et al.* The effect on serum myeloperoxidase activity and oxidative status of eradication treatment in patients *Helicobacter pylori* infected. **Clinical Biochemistry**. v. 44, p. 647-649, 2011.

NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T. Molecular and cellular mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation and oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med.**, n. 33, p. 3, p. 323-36, 2002.

NILSSON C. *et al.* Correlation between cag pathogenicity island composition and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. **Infect Immun**. n. 71, p. 6573–6581, 2003.

NOCTOR, G. *et al.* Glutathione. **Arabidopsis Book**, v. 9, p. 142, 2011.

NOVO, E.; PAROLA M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. **Fibrogenesis Tissue Repair**. p. 1: 5, 2008.

OLEASTRO, M. *et al.* *Helicobacter pylori* virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. **Eur J Microbiol Infect Dis**, v. 22, n. 2, p. 85-90, 2003.

OWEN, R. J. *Helicobacter*--species classification and identification. **Br Med Bull**, v. 54, n. 1, p. 17-30, 1998.

PASTORE, A. *et al.* Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. **Clin Chim Acta**, v. 333, n. 1, p. 19- 39, 2003.

PEEK, R.M. *et al.*, *Helicobacter pylori* strain-specific genotypes and modulation of the gastric epithelial cell cycle. **Cancer Res.**, v. 59, p. 6124-31, 1999.

PEREZ-TRALLERO, E.; ROTHENBACHER, D.; BRENNER, H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, v. 9, s. 1, p. 1-6, 2004.

PINHEIRO JÚNIOR, A. A.; GONÇALVES, P. M. R.; FRANCO, R. M. *Helicobacter pylori*. **Hig. Aliment.**, [S.l.], v. 18, n. 120, p. 19-24, maio 2004.

PODDAR, U.; YACHHA, S. K. *Helicobacter pylori* in children: an Indian perspective. **Indian Pediatrics**. v. 44, 2007.

QUEIROZ, D. M. *et al.* Natural history of *Helicobacter pylori* infection in childhood: eight-year follow-up cohort study in an urban community in northeast of Brazil. **Helicobacter**, v. 17, n. 1, p. 23-9, 2012.

RATH, S. *et al.* Regulation of Noxa-mediated apoptosis in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. **Faseb J**, v. 29, n. 3, p. 796-806, 2015.

RATHBONE B.J. *et al.* Systemic and local antibody responses to gastric *Campylobacter pyloridis* in non-ulcer dyspepsia. **Gut**. v. 26, p. 642-647, 1986.



RAUTELIN, H. *et al.* Assessment of systemic matrix metalloproteinase and their regulator response in children with *Helicobacter pylori* gastritis. **Scand J Clin Lab Invest**, v. 70, n. 7, p. 492-6, 2010.

RAUWS E.A.J.; TYTGAT G.N.J. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *Helicobacter pylori*. **Lancet** n. 335, p. 1233-5, 1990.

R.H. HUNT C, *et al.* *Helicobacter pylori* in developing countries. **World Gastroenterology Organisation Global Guidelines**. Agost, 201

RODRIGUES, M. N. *et al.* Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Fortaleza, Northeastern Brazil. **Rev Saude Publica**, v. 39, n. 5, p. 847-9, 2005.

RODRIGUES, M. N. *et al.* Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children from an urban community in north-east Brazil and risk factors for infection. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, v. 16, n. 2, p. 201-205, 2004.

SAKONLAYA, D. *et al.* Modified toluidine blue: an alternative stain for *Helicobacter pylori* detection in routine diagnostic use and post-eradication confirmation for gastric cancer prevention. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 15, n. 16, p. 6983-7, 2014.

SALAMA, N.R. *et al.* Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* plays a role during colonization in a mouse model of infection. **Infect. Immun.**,v. 69, n. 2, p. 730-6, 2001.

SALOMON, H. Uber das spirillum des sangetier magens und sein verhalten zuden belegzelle.**Zentrablhyg umwentmed**, v. 19, p. 433-442, 1896.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem.**,v. 25, p. 192-205, 1968.

SEVEN A. *et al.* Evaluation of oxidative stress parameters in blood of patients with laryngeal carcinoma. **Clin Biochem.** n. 32, p. 369–73, 1999.

SHAMI NJIE, MOREIRA EAM. Licopeno como agente antioxidante. **Rev Nutr.**, v. 17, n. 2, p. 227-36, 2004.

SIQUEIRA, J. S. *et al.* Aspectos gerais nas infecções por *Helicobacter pylori*: revisão. **RBAC**,[S.I.], v. 39, n. 1, p. 9-13, 2007.

SHIRIN, H. *et al.* *Helicobacter pylori* decreases gastric mucosal glutathione. **Cancer Letters**, v. 164, n. 2, p. 127-133, 2001.

STENT, A.; EVERY, A. L.; SUTTON, P. *Helicobacter pylori* defense against oxidative attack. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 302, n. 6, p. 22, 2012.

STEVENSON T.H. *et al.*, Growth of *Helicobacter pylori* in various liquid and plating media. **Lett Appl Microbiol.**, v. 30, n. 3, p. 192-6, mar, 2000.

SOKOL, R.J.; HOFFENBERG, E.J. Antioxidantes na doença gastrointestinal pediátrica. **Clin. Ped. Am. Norte**, n. 8, p. 457-72, 1997.

SOUNDARAVALLY, R. *et al.* Plasma ferritin and indices of oxidative stress in *Helicobacter pylori* infection among schoolchildren. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 56, n. 5, p. 519-522, 2013.

SUZUKI *et al.* *Helicobacter pylori*-Associated gastric pró-and antioxidant formation in Mongolian gerbis. **Free Radical Biology e Medicine**, v. 26, n. 5/6, p. 679-684, 1999.

TOMBOLA, F. *et al.* The *Helicobacter pylori vacA* toxin is a urea permease that promotes urea diffusion across epithelia. **J. Clin. Invest.** v. 108, p. 929-937, 2001.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M.; **Toxicology**, n. 41, p. 189, 2003.

VALKO, M. *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem Biol Interact**, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006.

VAN ZWET, A. A. *et al.* Practical diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Eur. J. Gastroenterol. **Hepatol.**, v 8, p. 501-07, 1996.

VASCONCELOS, S. M. L. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p.1323-1338, 2007.

VINCENT, H. K.; TAYLOR, A. G. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **International Journal of Obesity**, v. 30, n. 3, p. 400-418, 2006.

VINETTE, K. M. *et al.* Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. **BMC Microbiol**, v. 4, p. 5, 2004.

WANG, C. *et al.*, *Helicobacter pylori* neutrophil-activating promotes myeloperoxidase release from human neutrophils. **Biochem BiophysRes Commun**, v. 377, n. 1, p. 52-56, 2008.

WANG, G.; ALAMURI, P.; MAIER, R. J. The diverse antioxidant systems of *Helicobacter pylori*. **Mol Microbiol**, v. 61, n. 4, p. 847-60, 2006.

WARREN JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis [Letter]. **Lancet** n. 1, p.1273, 1983.

WEYDEN, M. B. V. D.; ARMSTRONG, R. M.; GREGORY, A. T. The 2005 nobel prize in physiology or medicine: the *Helicobacter* story illustrates some of the human hallmarks of revolutionary research. **Med. J. Aust.**, [Australia], v. 183, n. 11-12, p. 612-614, Dez. 2005.

WEBB PM, *et al.* Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living conditions in childhood: evidence for person to person transmission in early life. **BMJ** n. 308, p. 750-3, 1994.

WINTERBOURN C.C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. **Nat Chem Biol.** n. 4, p. 278–86, 2008.

XIA H.H.X.; TALLEY N.J. Natural acquisition and spontaneous elimination of *Helicobacter pylori* infection: clinical implications. **Am J Gastroenterol.** n. 92, p. 1780-7, 1997.

XIE, C.; LU, N.H. Review: Clinical management of *helicobacter pylori* infection in china. **Helicobacter**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2015.

YAMAOKA, Y. Increasing evidence of the role of *Helicobacter pylori* SabA in the pathogenesis of gastroduodenal disease. **J. Infect. Dev. Ctries.** v. 2, p. 174–181, 2008.

ZAMOCKY, M.; FURTMULLER, P. G.; OBINGER, C. Evolution of catalases from bacteria to humans. **Antioxid Redox Signal**, v. 10, n. 9, p. 1527-48, 2008.

ZHANG, H.; FORMAN, H. J. Glutathione synthesis and its role in redox signaling. **Semin Cell Dev Biol**, v. 23, n. 7, p. 722-8, 2012.

ZHOU, X. *et al.* Accuracy of stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: A meta-analysis. **Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology**, v. 38, n. 5, p. 629-638, 2014.

**ANEXO A – Questionário Estudo clínico e epidemiológico do HP em crianças e adolescentes residentes em comunidade urbana Fortaleza-Ceara.**

**IDENTIFICAÇÃO**

1. Código \_\_\_\_\_
2. Nome \_\_\_\_\_
3. Data de Nascimento \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_
4. Sexo: \_\_\_ (1=masculino; 2= feminino)
5. Endereço: \_\_\_\_\_

**HISTÓRIA PSICO-SOCIAL**

6. Tipo de Moradia \_\_\_ (1=alvenaria; 2=taipa; 3=mista)
7. Nº de pessoas no domicílio \_\_\_ 8. Nº de compartimentos \_\_\_
9. Nº de crianças na casa \_\_\_ 10. Nº de adultos na casa \_\_\_
11. Origem da água consumida \_\_\_ (1=CAGECE; 2= bomba; 3=cacimba; 4=chafariz; 5=poço; 6=lagoa; 7=açude; 8=outro)

**INFORMAÇÃO CLÍNICA**

(1=sim; 2=não)

12. Dor Abdominal \_\_\_ 13. Vômitos \_\_\_ 14. Diarréia \_\_\_ 14.1. Quanto episódios\_\_\_\_\_
15. Usa algum medicamento ou usou durante os últimos 6 meses (1=sim; 2=não)  
Antibiótico \_\_\_ Antiinflamatório \_\_\_ Antiácido \_\_\_ Outros\_\_\_\_\_
16. Grau de instrução: número de anos estudou:\_\_\_\_\_
17. Número de pessoas no mesmo domicílio:\_\_\_\_\_
18. Grávida:\_\_\_\_\_ 19. Amamentando:\_\_\_\_\_
20. Realizou taratamento para *H. pylori*:\_\_\_\_\_
21. Tem úlcera:\_\_\_ 22. Insuficiência Hepática:\_\_\_ 23. Insuficiência renal:\_\_\_
24. Menstruação:\_\_\_\_\_ 25. Quantos dias:\_\_\_\_\_ 26. Irregularidade menstrual:\_\_\_\_\_.
25. Tipo de água que consome: filtrada ( ) não filtrada ( )
26. Uso crônico de medicamentos: \_\_\_\_\_.

## **ANEXO B – Termo de Consentimento**

Título: Estudo Clínico, Epidemiológico do *H. Pylori* na região Nordeste do Brasil.

Introdução: Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Sua participação é importante, portanto é fundamental que você compreenda as explicações sobre os procedimentos propostos. Esta declaração esclarece o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos, precauções do estudo e o seu direito de desistir do estudo a qualquer momento.

Resumo: O *H.pylori* é uma bactéria que causa gastrite e úlcera péptica e atualmente existem fortes evidências de que a infecção é adquirida na infância. Como a infecção pelo *H. pylori* acomete cerca de 50% das crianças, é muito importante esclarecer os aspectos relacionados com a transmissão da infecção e determinação dos fatores envolvidos na aquisição da bactéria.

Objetivo: Esse trabalho tem como objetivo avaliar a infecção e os tipos de cepas de *Helicobacter pylori*, através do Teste respiratório e do Enteroteste (deglutição de uma cápsula contendo um fio de algodão).

Procedimento: Você irá responder a um questionário. Será realizado o teste respiratório, onde você irá soprar em um balão, em seguida tomará 200 ml de suco de laranja contendo uma substância, uréia marcada com C 13, que não é radioativo podendo ser utilizado por qualquer pessoa, inclusive crianças e gestantes. Após 30 minutos você soprará outro balão. Outro teste que será realizado é o Enteroteste, onde você irá deglutir uma cápsula, que contém um fio de algodão estéril medindo 90 cm de comprimento e 05 mm de largura (semelhante a uma linha que se usa para fazer trabalhos manuais de crochê). Uma pequena porção ficará para fora da boca e fixado à bochecha com uma fita adesiva. A cápsula será deglutida com um copo de água (200ml) e após 01 hora, o fio será removido. Ambos os testes necessitam de pelo menos 06 horas de jejum prévio. Serão incluídos nesse estudo aqueles que aceitarem participar voluntariamente do estudo e concordarem em realizar os testes. E será excluído do estudo aquele que não aceitar ,ou não conseguir realizar o teste.

Riscos : Esse método é confiável, e não apresenta riscos, apenas causa um leve desconforto pela sensação de um fio na garganta.

Benefícios: A sua participação será muito importante para o conhecimento da infecção pelo *Helicobacter pylori* e poderá contribuir no futuro para melhoria do controle da infecção em nosso país.

Confidencialidade: Os seus resultados serão mantidos em sigilo. Qualquer publicação dos dados não identificará o participante.

Desligamento: poderá se afastar a qualquer momento do estudo sem prejuízo para sua saúde.

Contato com o pesquisador: Dra Lucia Libanêz B.C. Braga pode ser feito pelos telefones 085 33668052. Caso tenha alguma dúvida sobre os seus direitos como paciente de pesquisa, você deverá ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC no número (08533.66.8338).

Consentimento: Li e entendi as informações acima. E estou ciente de que não haverá nenhum pagamento pela participação no estudo. Tive oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando o meu consentimento para que meu filho participe do estudo, até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

Nome do participante

Assinatura

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Nome do responsável

Assinatura

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Nome do pesquisador

Assinatura

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Nome de quem obteve o TCCE

Assinatura

## ANEXO C – Comitê de Ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ/ PROPESQ



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo clínico, epidemiológico e caracterização dos genótipos do H.pylori no Ceará.

**Pesquisador:** Lucia Libanez Bessa Campelo Braga

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 18302214.8.0000.5054

**Instituição Proponente:** Instituto de Biomedicina - IBIMED

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 555.906

**Data da Relatoria:** 13/03/2014

#### Apresentação do Projeto:

A pesquisa pretende avaliar o H.pylori na comunidade e permitirá conhecer a virulência das cepas, comparar as cepas de indivíduos residentes no mesmo grupo familiar e, através de métodos moleculares, estudar a transmissão intrafamiliar e avaliar a resistência a alguns antimicrobianos, principalmente a claritromicina. O conhecimento da epidemiologia molecular e da transmissão do H. pylori permitirá traçar estratégias para diminuir ou até evitar as doenças associadas a esta bactéria, conhecer os fatores de risco e principalmente as populações mais susceptíveis. Nessa proposta irá ser avaliada a epidemiologia do H.pylori em regiões distintas do estado do Ceará e em pacientes assintomáticos da comunidade.

#### Objetivo da Pesquisa:

Geral: Traçar o perfil genotípico das cepas de H. pylori e fazer estudo comparativo dos marcadores de virulência das cepas em amostras populacionais provenientes de indivíduos assintomáticos residentes em uma comunidade urbana em Fortaleza e em dispépticos atendidos na Santa Casa de Misericórdia de Sobral, Hospital de Barbalha, Hospital Regional de Brejo Santos e no Hospital Universitário Walter Cantídio.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e desconfortos da endoscopia e da coleta de sangue, o procedimento para Teste

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-270

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**Fax:** (85)3223-2903

**E-mail:** comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 555.906

respiratório e Enteroteste estão descritas no TCLE.

Benefícios: conhecimento da infecção pelo H. pylori e poderá contribuir no futuro para a melhoria do controle da infecção no país. No momento não há benefícios diretos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo transversal, prospectivo, analítico. Serão selecionadas através de randomização 180 domicílios comunidade de baixa renda denominada Parque Universitário e os indivíduos residentes no domicílio serão convidados a participar do estudo e realizarão teste respiratório, coletarão sangue para pesquisa de anticorpos antiH.pylori ( anti cagA) e estudo de stress oxidativo. Aqueles positivos irão realizar o enteroteste (crianças adolescentes) os adultos serão convidados a realizar endoscopia. Os indivíduos adultos que forem H.pylori positivos e tiverem indicação para tratamento segundo os consensos serão devidamente encaminhados ao ambulatorio do Hospital Walter Cantídio para tratamento. As amostras de sangue, fezes, teste respiratório, enteroteste serão coletadas no domicílio por técnicas devidamente treinadas. Os adultos serão convidados a realizar endoscopia digestiva alta no Hospital universitário Walter Cantídio e as crianças o enteroteste. Estudos realizados em dispépticos Pacientes que irão realizar endoscopia por indicação médica serão convidados a participar do Estudo, assinarão termo de Consentimento e será preenchido questionário com dados sócio demográficos, sintomas clínicos e tratamento prévio para H.pylori dentre outros Desse estudo participarão os seguintes Hospitais Hospital Universitario Walter Cantídio, Hospital Regional de Brejo Santos, Santa Casa de Misericórdia de Sobral Hospital São Francisco de Barbalha Serão incluídos 150 indivíduos em cada centro Indivíduos portadores Nos Hospitais do interior do Estado será coletado fragmento de biópsia para histopatológico, teste da urease e um fragmento do corpo e do antro gástrico para genotipagem das cepas As biopsias do corpo e antro serao coletadas e estocadas a menos vinte graus até envio pelo Correio para Fortaleza Os pacientes do Hospital Universitário além das biópsias gástricas para genotipagem coletarão também sangue , para detecção de anticorps anti CagA e será avaliado e stress oxidativo no tecido gástrico.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram apresentados adequadamente: folha de rosto, carta de encaminhamento, curriculum vitae do pesquisador, anuência dos pesquisadores, anuências dos locais onde a pesquisa será realizada, orçamento. O cronograma foi ajustado e incluiu Termo de assentimento para os menores.

**Recomendações:**

Sem recomendações.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-270

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comape@ufc.br



