



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VALBER DA CRUZ SILVA

**ANÁLISE COMPARATIVA DE CEPAS DE *HELICOBACTER PYLORI* EM LESÕES
GÁSTRICAS DE DIFERENTES GRAVIDADES.**

FORTALEZA

2017

VALBER DA CRUZ SILVA

ANÁLISE COMPARATIVA DE CEPAS DE *HELICOBACTER PYLORI* EM LESÕES GÁSTRICAS DE DIFERENTES GRAVIDADES.

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Professora Dr^a. Sílvia Helena Barem Rabenhorst

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)

- S584a Silva, Valber da Cruz.
Análise comparativa de cepas de *Helicobacter pylori* em lesões gástricas de diferentes gravidades /
Valber da Cruz Silva. – 2017.
65 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Sílvia Helena Barem Rabenhorst.
1. *Helicobacter pylori*. 2. Gastrite crônica. 3. Metaplasia intestinal. 4. Câncer gástrico. 5. Cag-PAI. I.
Título.

CDD 570

VALBER DA CRUZ SILVA

ANÁLISE COMPARATIVA DE CEPAS DE *HELICOBACTER PYLORI* EM LESÕES GÁSTRICAS DE DIFERENTES GRAVIDADES.

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Professora Dr^a. Sílvia Helena Barem Rabenhorst
Universidade Federal do Ceará

Professora Dr^a. Eliane dos Santos Pereira
Faculdade Regional da Bahia

Eduardo Henrique Neves Cunha Filho
Universidade Federal do Ceará

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr^a Sílvia Helena Barem Rabenhorst, pela excelente orientação,

Aos professores participantes da Banca Examinadora Eliane dos Santos Pereira e Eduardo Henrique Neves Cunha Filho pelo tempo disponibilizado e pelas valiosas colaboração e sugestões.

Aos meus familiares pelo suporte durante essa jornada.

A Emanuele Oliveira e Aline Kimberly pelos ensinamentos e amizade.

Aos demais integrantes do Laboratório de Genética Molecular pelo apoio durante esses anos.

Aos meus amigos e colegas da turma, que sempre me ajudaram durante a graduação.

RESUMO

A bactéria *Helicobacter pylori* é um agente etiológico bem estabelecido para o desenvolvimento de lesões gástricas como gastrite, úlcera péptica, metaplasia e doenças malignas, com alta incidência de infecção em todo o mundo, porém apenas uma minoria de infectados desenvolve doenças a ela relacionadas. O caráter patogênico e *H. pylori* é dado pela presença da ilha de patogenicidade *cag*-PAI (*cytotoxin associated gene pathogenicity island* – *cag*-PAI) bem como a presença da variação alélica *vacA s1m1*, levando ao desenvolvimento de lesões gástricas mais graves. Assim, o objetivo desse estudo é determinar as cepas de *Helicobacter pylori*, quanto à presença de genes de *cag*-PAI (*cagA*, *cagE*, *cagM*, *cagG*, *cagT* e *virb11*) e a variação alélica de *vacA*, em lesões gástricas de diferentes gravidades nas populações estudadas. Foram incluídos neste estudo 352 amostras de pacientes com lesões gástricas de diferentes gravidades: 203 pacientes com gastrite crônica (GC) e metaplasia intestinal (MI) e 155 pacientes com câncer gástrico (CG) do Ceará e Pará. A detecção de *H. pylori* foi feita através da amplificação do gene *ureC*, e os genes estudados por amplificação de fragmentos específicos, usando a técnica de PCR e visualização em gel de agarose 1% ou poliacrilamida a 6% e 8%. No câncer gástrico, os homens representaram a maioria dos casos (72%), enquanto as mulheres, 28%. Nas lesões não câncer, foi observado o oposto: mulheres apresentaram maior frequência nas GC (54%) e MI (69%). As análises comparativas não se observou diferenças entre as gastrites e as metaplasias quanto a frequência dos genes de *H. pylori* estudados. As, observou-se que GC e MT, quando comparadas, apresentaram diferença significativa. Quando comparados os genótipos de *H. pylori* em GC e CG, as regiões “s2”, “m1” e a combinação “s2m2” mostraram-se estatisticamente diferentes ($p < 0,02$), também se observou que a maioria dos genes de *cag*-PAI apresentou diferença significativa na frequência. Esse mesmo padrão foi observado na comparação das MI com CG. Na análise comparativa entre os casos de câncer gástrico das diferentes populações observou-se que as únicas cepas que diferiram nas frequências foram as portadoras dos genes *cagE* e *virb11* ($p < 0,01$). Embora haja pequenas diferenças, todas as cepas presentes nas diferentes lesões apresentaram alta frequência do alelo s1 e a combinação s1m1 GC s1 (72%) s1m1 (68%), MI s1 (83%) s1m1 (69%), CG no Ceará s1 (47%) s1m1 (58%) e CG no Pará s1 (79%) s1m1 (61%). Esses dados evidenciam uma associação de cepas portadoras de *cagE* e *virb11*, concomitante *vacA*s1m1 na progressão da lesão gástrica nas populações estudadas.

Palavras-chaves: *Helicobacter pylori*; Gastrite Crônica; Metaplasia Intestinal; Câncer Gástrico e *cag*-PAI

ABSTRACT

Helicobacter pylori is a well established etiological factor in the development of gastric lesions such as gastritis, peptic ulcers, metaplasia and malignant disease. This pathogen infection incidence is high worldwide. The *H. pylori* pathogenic character is given by the presence of *cag*-PAI pathogenicity island (*cytotoxin associated gene pathogenicity island – cag*-PAI) as well as the allelic variation *vacA s1m1* presence, leading to the development of more severe gastric lesions. The aim of this study is to determine the strains of *Helicobacter pylori* according to the presence of *cag*-PAI genes and the allelic variation of *vacA* in gastric lesions of different severities in the studied populations. This study included 352 samples from patients with gastric lesions of different severities: 203 patients with chronic gastritis (CG) and intestinal metaplasia (IM) and 155 patients with gastric cancer (GC) from Ceará and Pará. *H. pylori* was detected by amplification of the *ureC* gene and the other genes studied were detected by amplification of specific fragments, using the PCR technique. The amplification products were observed in agarose (1%) and polyacrylamide (6% and 8%) gels. In gastric cancer, men were the majority with 72% of cases, while women were 28%. In less severe lesions, the opposite was observed: women presented higher frequencies in the CG (54%) and IM (69%). Analyzing the different lesions frequencies, it was observed that CG and IM, when faced, did not present significant difference. Comparing *H. pylori* genotypes in CG and GC, the regions "s2", "m1" and the combination "s2m2" were statistically different ($p < 0.02$), it was also observed that the majority of *cag*-PAI genes showed a significant difference in frequency. This same pattern was observed comparing IM to GC. Comparative analysis between gastric cancer from different populations showed that the only strains that differed in the frequencies were the carriers of the genes *cagE* and *virb11* ($p=0.01$). Although there are these small differences, all lesions presented the s1 allele and the s1m1 combination, the most frequent: CG s1 (72%) s1m1 (68%), IM s1 (83%) s1m1 (69%), GC in Ceará s1 (47%) s1m1 (58%) and GC in Pará s1 (79%) s1m1 (61%). These data shows an association between strains carrying *cagE* and *virb11* genes, concomitant with *vacA s1m1* in the progression of gastric lesions in studied populations.

Key-words: *Helicobacter pylori*; Chronic Gastritis; intestinal metaplasia; Gastric Cancer and *cag*-PAI.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 - Representação estrutural externa de <i>H. pylori</i>	12
Figura 2 - Prevalência global da infecção pelo <i>Helicobacter pylori</i>	13
Figura 3: Fluxograma da “Casca de Correia”.....	14
Figura 4 - Representação esquemática da distribuição de inflamação e atrofia em diferentes tipos de gastrite crônica atrófica e não atrófica.....	15
Figura 5 - Gastrite Crônica não atrófica e atrófica.....	16
Figura 6 - Aspecto endoscópico da metaplasia intestinal.....	16
Figura 7 - Taxas brutas de incidência de câncer gástrico por 100.000 homens estimadas para o ano de 2016 no Brasil.....	17
Figura 8 - Taxas brutas de incidência de câncer gástrico por 100.000 mulheres estimadas para o ano de 2016 no Brasil.....	18
Figura 9 - Anatomia do estômago.....	19
Figura 10: Representação de <i>cag</i> -PAI de <i>Helicobacter. pylori</i>	21

LISTA DE TABELA

Tabela 01 - Primers, temperatura de anelamento, tamanho dos produtos dos PCRs.....	30
Tabela 02 - Frequência dos genes de <i>H. pylori</i> em gastrite crônica e metaplasia.....	32
Tabela 3 - Frequências dos genes de <i>H. pylori</i> em gastrite crônica e câncer gástrico na população do Ceará e Pará.....	33
Tabela 4 - Frequências dos genes de <i>H. pylori</i> em metaplasia intestinal e câncer gástrico na população do Ceará e Pará.....	34
Tabela 5 - Frequências dos genes de <i>H. pylori</i> em câncer gástrico na população do Ceará e Pará	36
Tabela 06: Correlação dos genes de <i>cag</i> -PAI na gastrite crônica.....	47
Tabela 07: Correlação dos genes de <i>cag</i> -PAI na metaplasia.....	40
Tabela 08: Correlação dos genes de <i>cag</i> -PAI no câncer gástrico no Ceará.....	43
Tabela 09: Correlação dos genes de <i>cag</i> -PAI no câncer gástrico no Pará.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

μm	Micrometro
<i>cag</i> -PAI	Ilha de patogenicidade de / <i>cag</i>
CG	Câncer Gástrico
CTAB	<i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IL	Interleucinas
Kb	Kilobases
kDa	Kilo Daldon
Mb	Mega pares de base
MI	Metaplasia intestinal
pH	Potencial Hidrogeniônico
T4SS	Sistema de secreção do tipo IV

LISTA DE SIMBOLO

%

Porcentagem

®

Marca Registrada

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 <i>Helicobacter pylori</i>	12
1.2 Lesões gástricas associadas a <i>Helicobacter pylori</i>	13
1.2.1 Gastrite Crônica	14
1.2.2 Metaplasia Intestinal	16
1.2.3 Câncer Gástrico	17
1.2.3.1 Epidemiologia do câncer gástrico	17
1.2.3.2 Característica Histopatológica	18
1.2.3.3 Etiologia	19
1.3 Fatores de virulência de <i>Helicobacter pylori</i>	20
1.3.1 Gene <i>vacA</i>	20
1.3.2 A ilha de patogenicidade de <i>cag</i>	21
1.3.2.1 Genes de <i>cag</i> -PAI	21
1.4 Pergunta de partida	22
1.5 Hipótese	23
2 OBJETIVO	24
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivo específicos	24
3 MATERIAIS E METODO	25
3.1 Cauística e coleta de dados	25
3.2 Aspectos éticos	25
3.3 Coleta de dados e material	26
3.4 Extração do DNA de espécimes congelados	26
3.5 Genotipagem de <i>H. pylori</i>	27
3.5.1 Presença e subtipos do gene <i>vacA</i> de <i>H. pylori</i>	28
3.5.1.1 <i>vacA</i> s1 e s2	28
3.5.1.2 <i>vacA</i> m1 e m2	28
3.5.2 Detecção do gene <i>cagA</i>	29
3.5.3 Detecção do gene <i>cagE</i>	29
3.5.4 Detecção do gene <i>virb11</i>	29
3.5.5 Detecção do gene <i>cagG</i> , <i>cagT</i> , <i>cagM</i>	29

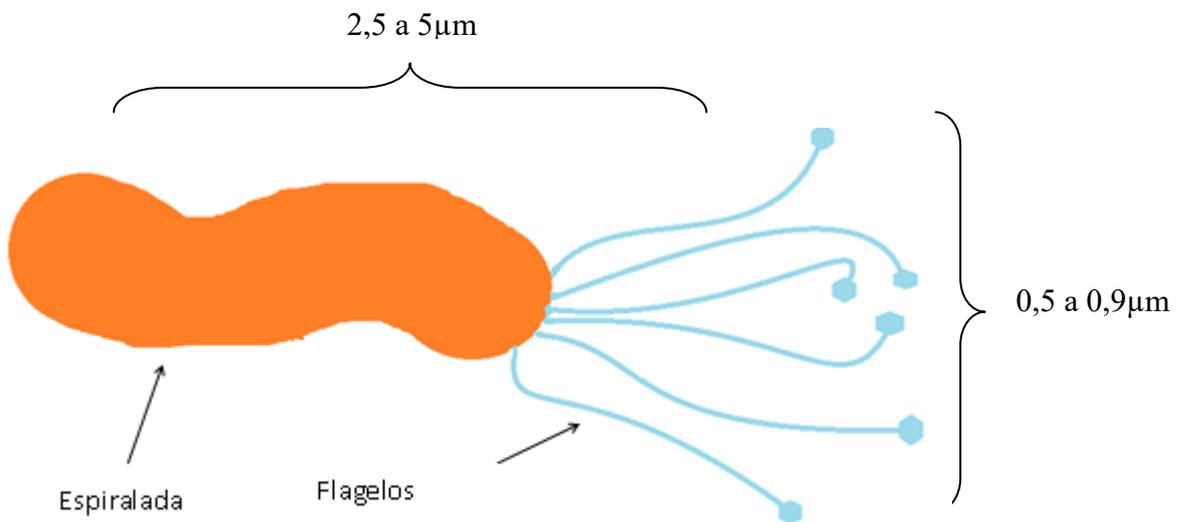
3.6 Analise estatístico	30
4 RESULTADO	31
4.1 Caracterização da amostra	31
4.2 Análises de correlação nas gastrites e metaplasia	31
4.3. Análise dos genes de <i>H. pylori</i> das lesões com Câncer Gástrico	33
4.3.1 Análise dos genes das gastrites crônica e Câncer Gástrico	33
4.3.2 Análise dos genes da Metaplasia Intestinal e Câncer Gástrico	34
4.4 Análise dos genes de <i>H. pylori</i> no câncer gástrico nas diferentes populações	35
5 DISCUSSÃO	50
5.1 Lesões gástricas: caracterização e aspectos clínicos-epidemiológicos	50
5.2 Analise comparativa da infecção por <i>H. pylori</i> nas gastrites crônicas e metaplasia intestinal	50
5.3 Analise comparativa da infecção por <i>H. pylori</i> nas gastrites crônicas e metaplasia com câncer gástrico	51
5.4 Analise comparativa da frequência de câncer gástrico nas diferentes populações	52
6 CONCLUSÃO	53
7 REFERENCIAS	54
APENDICE A – Parecer do comitê de ética	60
APENDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido	62
APENDICE C – Cadastro de pacientes submetidos a coleta de tecido	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Helicobacter pylori*

Descoberta por Barry Mas Marshall e Robin Warren, em 1982 (MARSHALL E WARREN, 1984), a *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) (figura 1) é uma bactéria gram-negativa, microaerófila, flagelada, que apresenta de 0,5 a 0,9 μm de largura e 2,5 a 5 μm de comprimento, espiralada e curvada (GOLDSTEIN, 2002; GOODWIN et al., 1989). Graças à essa descoberta, os pesquisadores foram agraciados com o Premio Nobel de Medicina. *H. pylori* está classificada no Domínio Bacteria, Reino: Eubacteria, filo Proteobacteria, classe Epsilonproteobacteria, na ordem Campylobacterales, na família Helicobacteraceae e no gênero *Helicobacter* (DUNN; COHEN; BLASER, 1997, MARSHALL, 1984, NCBI, 2010). O gênero *Helicobacter* é composto por aproximadamente 27 espécies. Todas com a capacidade de colonizar o estômago (BLASER; BERG, 2001).

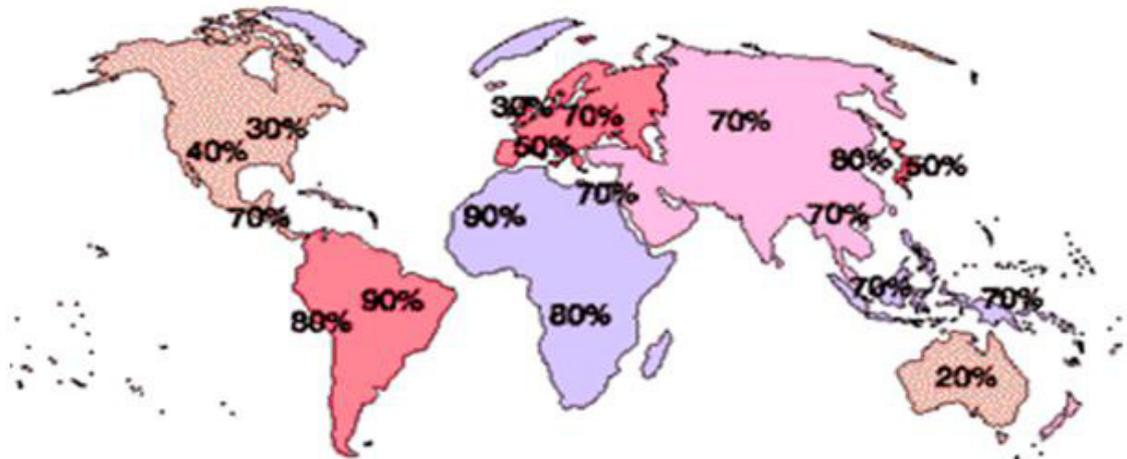
Figural - Representação estrutural externa de *H. pylori*.



H. pylori é uma bactéria cosmopolita, que infecta cerca de metade da população mundial, porém com grande variação entre países, sua incidência está fortemente relacionada com situação socioeconômica. Em países em desenvolvimento, essa prevalência encontra-se em torno de 70 a 90%, enquanto nos países desenvolvidos, está entre 25 e 50% (figura 2) (DUNN; COHEN; BLASER, 1997). As suas vias de transmissão mais aceitas atualmente são: a via fecal-oral (característica de países em desenvolvimento) e a via gastro-oral e oral-oral (prevalente em países desenvolvidos) (KHALIFA; SHARAF; ZIZ, 2010).

Sua infecção persistente está associada com diversas doenças gastrointestinais, tais como gastrites, úlcera duodenal, câncer gástrico e linfoma de MALT (MARSHALL, B. 2002). Segundo Blaser (2004), a maioria das pessoas infectadas passa a vida inteira sem demonstrar sintomas da infecção, mas doenças mais graves como ulcera péptica e câncer gástrico podem desenvolver de 10 a 15% dos indivíduos (BACKERT, S. 2017).

Figura 2 – Prevalência global da infecção pelo *H. pylori*.

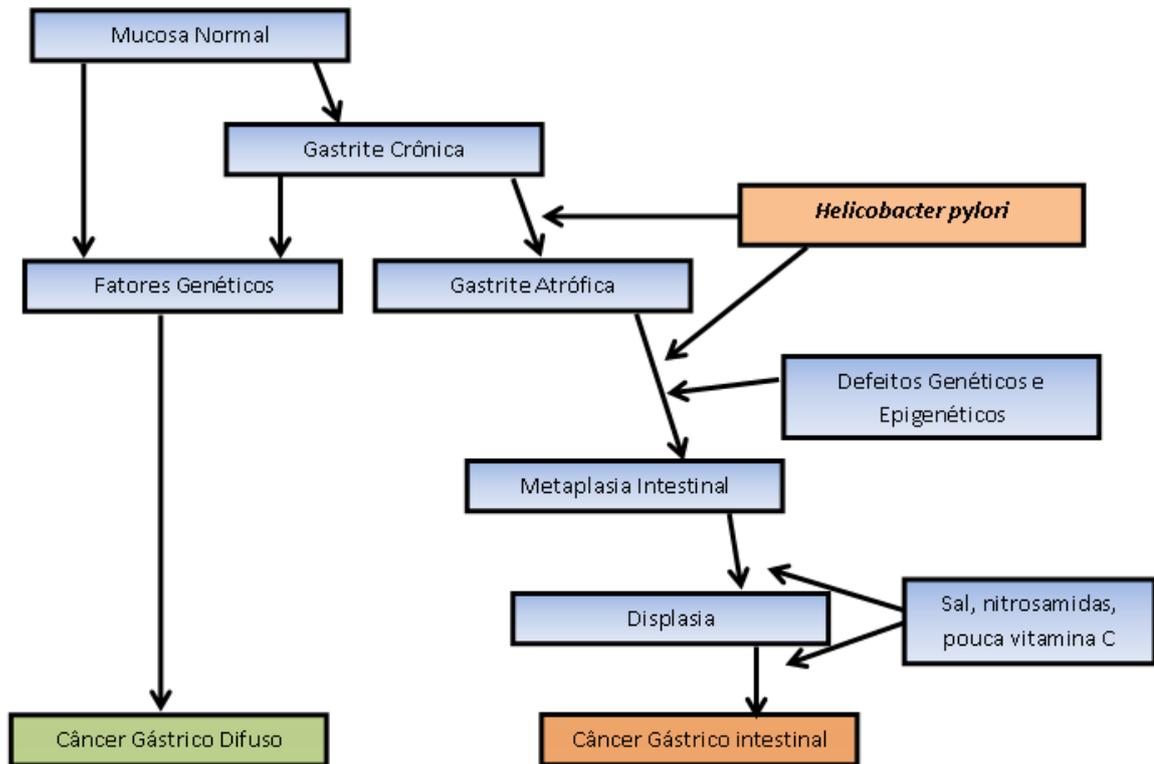


Fonte: The Helicobacter Foundation 2017.

1.2. Lesões gástricas associadas à *Helicobacter pylori*

As lesões gastroduodenais associadas ao *H. pylori* podem progredir para o câncer gástrico, que resulta de um processo com múltiplas etapas, como gastrite crônica, atrofia gástrica, metaplasia intestinal e displasia. A progressão dessas lesões gástricas que culmina no câncer gástrico é denominada “Casca de Correa” (figura 3) (CORREA et al., 1975)

Figura 3 – Fluxograma da “Cascata de Correa”.



Fonte: Adaptado de Correa

1.2.1. Gastrite crônica

A gastrite crônica é uma seqüela inespecífica a uma agressão, multifatorial, de longa duração à mucosa gástrica, evoluindo de acordo com a intensidade, desde uma inflamação superficial até estágios de inflamação mais profunda com atrofia da mucosa e graus crescentes de metaplasia intestinal. Na gastrite por *H. pylori*, encontra-se um infiltrado celular que contém efetores da resposta imune, incluindo linfócitos T CD4 e CD8, linfócitos B, plasmócitos, monócitos, mastócitos e eosinófilos (DIXON et al., 1996).

A gastrite é dividida em gastrite atrófica e não-atrófica. (Figura 4). Na gastrite não atrófica por *H. pylori*, a inflamação ocorre principalmente na região antral ou quase uniformemente distribuídas no antro e no corpo. Na gastrite atrófica por *H. pylori*, a inflamação é geralmente menos intensa e similar no antro e no corpo, manchas de atrofia com metaplasia intestinal surgem na incisura angular e na zona de transição (DIXON et al., 1996).

Figura 4 – Representação esquemática da distribuição de inflamação e atrofia em diferentes tipos de gastrite crônica atrófica e não trófica.



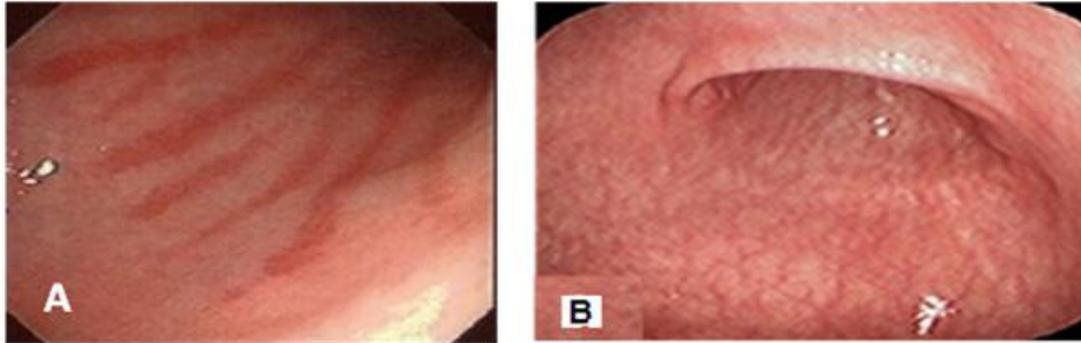
(1) Distribuição da inflamação nas gastrites não atrófica, atrófica e auto-imune.

(2) Distribuição da atrofia e metaplasia nas gastrites não atrófica, atrófica e auto-imune.

Fonte: Dixon 1996.

A atrofia da mucosa gástrica é definida como a perda de tecido glandular. Essa atrofia leva ao afinamento da mucosa causando danos graves a mesma, que pode ser seguida de erosão ou ulceração da mucosa com destruição da camada glandular ou resultar de prolongado processo inflamatório (LAUWERS; SRIVASTAVA, 2007). A atrofia da mucosa do corpo está ligada a perda da secreção ácida, ao desenvolvimento de metaplasia e ao risco aumentado de câncer gástrico (figura 5) (DIXON et al., 1996).

Figura 5 – Gastrite crônica não atrófica e atrófica.



A: Aspecto endoscópico da gastrite crônica não atrófica

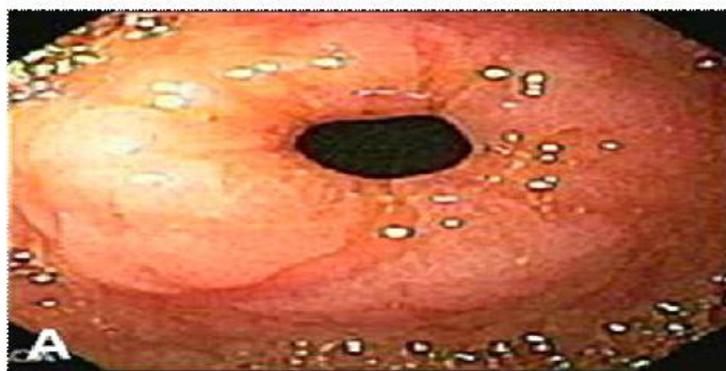
B: Aspecto endoscópico da gastrite atrófica

Fonte: WWW.endoscopicurso.com.br/imagens/fotografias

1.2.2. Metaplasia intestinal

A metaplasia intestinal (MI) representa a substituição do epitélio gástrico no estômago por epitélio semelhante ao do intestino, sendo essa lesão frequentemente encontrada no trato gastrintestinal, principalmente no estômago e esôfago, geralmente iniciada pela irritação persistente da mucosa provocada pela infecção por *H. pylori*. A metaplasia intestinal é dividida nos tipos I, II e III. O tipo I se caracteriza pela presença de células absortivas, de células de Paneth e de células caliciformes produtoras de sialomucinas. As do tipo II e III possuem células colunares e caliciformes que secretam sialomucinas e ou sulfomucinas (LAUWERS; SRIVASTAVA, 2007).

Figura 6 – Aspecto endoscópico da metaplasia intestinal.



Fonte: www.endoscopicurso.com.br/imagens/fotografias

1.3 Câncer Gástrico

1.3.1 Epidemiologia do Câncer Gástrico

No mundo o câncer gástrico (CG) se configura como o quinto câncer mais frequente, depois dos cânceres de pulmão, mama, próstata e cólon e é a terceira causa de morte por câncer (FERLAY et al., 2015). No Brasil, o câncer gástrico está em quarto lugar na incidência (8,5% dos casos) entre os homens e em quinto nas mulheres (4,8%). Dados disponíveis pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) revelou que em 2016 o número de novos casos foi de 20.520, sendo 12.920 homens e 7.600 mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 13,04 casos novos a cada 100 mil homens e 7,37 para cada 100 mil mulheres (INCA, 2016).

Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer de estômago em homens é o segundo mais frequente nas Regiões Norte (11,62/100 mil) e Nordeste (10,67/100 mil). Nas Regiões Sul (17,13/100 mil) e Centro-Oeste (11,50/ 100 mil), é o quarto mais frequente. Já na Região Sudeste (13,79/100 mil), ocupa a quinta posição (figura 7). Para as mulheres, é o quarto mais frequente na Região Norte (5,82/100 mil). Nas Regiões Sul (8,71/100 mil) e Nordeste (6,73/100 mil), ocupa a quinta posição. Nas demais Regiões, Sudeste (7,82/100 mil) e Centro-Oeste (6,35/100 mil), ocupa a sexta posição (figura 08) (INCA, 2016).

Figura 7 – Taxas brutas de incidência de câncer gástrico por 100.000 homens estimadas para o ano de 2016 no Brasil.



Fonte: INCA – Instituto Nacional do Câncer, 2016.

Figura 8 – Taxas brutas de incidência de câncer gástrico por 100.000 mulheres estimadas para o ano de 2016 no Brasil.



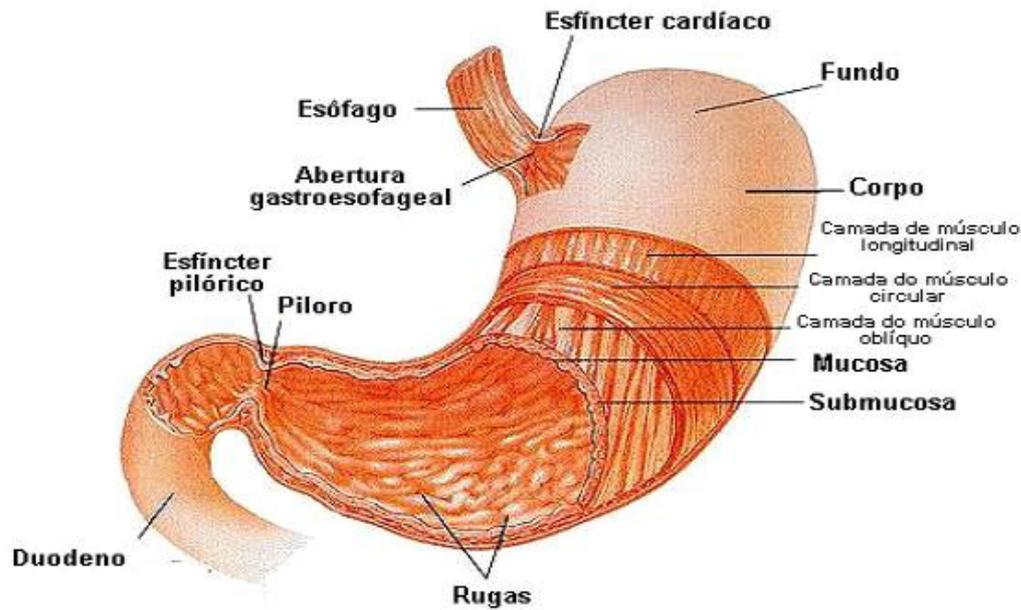
Fonte: INCA – Instituto Nacional do Câncer, 2016.

1.3.2 Características Histopatológicas

Os tumores gástricos podem se localizar na junção gastroesofágico, que corresponde ao cárdia e ao fundo gástrico, bem como podem ser observados na região distal, que engloba o antro gástrico e o piloro (figura 9). Sendo que o número de casos no cárdia foi maior do que os cânceres gástricos não-cárdia na Ásia Oriental, Ásia Central e Noroeste da Europa. No entanto, na Oceania, o número de casos de câncer no cárdia foi bem pequeno (IARC- 2014).

A classificação histológica do câncer gástrico é dividida em dois tipos principais: não-epiteliais e epiteliais. Dentre os tumores epiteliais, estão incluídos os adenocarcinomas, que representam 90-95% dos casos de tumor gástrico (CORREIA et al., 2009). As diferentes localizações do tumor sugerem que os cânceres gástricos de diferentes regiões gástricas apresentam-se como doenças distintas, com etiologia diferente. Como também, há diferença quanto morfológica e incidência, no qual tumores proximais apresentam um aumento na incidência nas últimas décadas e apresentam prognósticos positivos que os tumores distais (IARC-2014).

Figura 9 – Anatomia do estômago.



Fonte: Thefodeo.

Segundo a classificação de Lauren, o câncer gástrico pode ser dividido em três subtipos: intestinal, difuso e misto. O tipo intestinal engloba tumores mais bem diferenciados que apresentam células com núcleos grandes e irregulares, possuindo coesão celular e permitindo a formação de túbulos glandulares semelhantes a células intestinais. No tipo difuso, ocorre a existência de tumores pouco diferenciados, sendo compostos por pequenas células não coesas, difusamente dispersas, que não formam estruturas glandulares, podendo apresentar células com núcleos deslocados para a periferia do citoplasma devido a elevada produção de mucina (ESPEJO e NAVARRETE, 2003; HARTGRINK et al., 2009).

O tipo intestinal é mais comum em homens e em indivíduos mais velhos. Quanto ao tipo difuso, é mais comum em mulheres e indivíduos jovens e tem como condição precursora, gastrite com infecção por *H. pylori* (STADTLANDER et al., 1999).

1.3.3 Etiologia

O câncer gástrico é uma doença de etiologia multifatorial na qual a interação entre fatores genéticos do hospedeiro e fatores ambientais desempenham um papel fundamental (QIU et al., 2005).

Dos fatores ambientais fortemente associados ao risco, deve-se salientar o consumo elevado de sal (que destrói a camada mucosa gerando inflamação), consumo

excessivo de álcool, tabagismo, ingestão de alimentos em conserva, defumados, carnes curadas, peixes secos e outros alimentos conservados em sal (YOU et al, 2000, GLADE, 1999, FRANKE et al., 2005, CÉSAR et al., 2002).

A infecção por *H. pylori* é considerada o maior fator de risco conhecido para o desenvolvimento do câncer gástrico (MARSHALL, 2002).

1.4 Fatores de virulência de *H. pylori*

Diversos fatores de virulência de *H. pylori* estão envolvidos na patogênese gástrica, sendo divididos de acordo com as funções que apresentam. Existem aqueles envolvidos na colonização, adesão di epitélio gástrico, no dano tecidual e na sobrevivência da bactéria.

O genoma de *H. pylori* varia de 1,6 a 1,73 Mb (DUNN; COHEN; BLASER, 1997). Esta bactéria possui grande variabilidade genética entre as cepas, o que pode gerar respostas imunes diferentes, geradas por reações inflamatórias por mediadores e citocinas (ZAWILAK; ZAKRZEWSKA-CZERWIŃSKA, 2001; PEEK JUNIOR, 2005).

Dois fatores bacterianos são bem estabelecidos quanto à virulência: a presença dos genes *vacA* e *cagA* (ESLICK et al., 1998). Outros estudos apontam a importância de outros genes como: *cagE*, *virB11*, *flaA* de *H. pylori*, em câncer gástrico (LIMA et al., 2010).

1.4.1 Gene *vacA*

A toxina vacuolizante VacA que é codificada pelo gene *vacA* e desempenha um papel no sucesso da infecção, pois está relacionada à capacidade de adaptação à mucosa gástrica ao se comportar como transportador passivo de uréia, também é responsável pela vacuolização, que induz a apoptose da célula do epitélio gástrico (PASSARO; CHOSY; PARSONNET, 2002). Ela é uma permease que promove a difusão da uréia através da célula epitelial, induzindo a formação de canais seletivos de ânions nas células epiteliais, além de também causar lesão celular induzindo apoptose (DÍAZ et al., 2005).

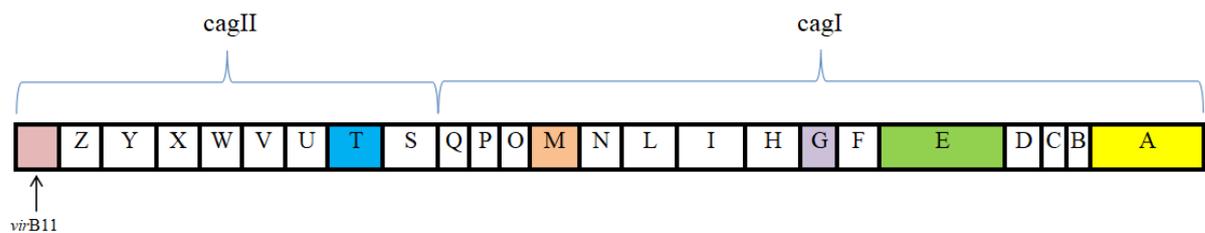
O gene *vacA* possui duas partes variáveis, “s” e “m”. A região s possui dois alelos, s1 ou s2, e a região média (m) que possui as variações m1 ou m2. A combinação da região s com os alelos da região m resultam em quatro combinações (s1m1, s1m2, s2m2 e s2m1) que determinam a produção de citotoxinas (LIMA; RABENHORST, 2009). As cepas portadoras do genótipo *vacA* s1m1 produzem grande quantidade de citotoxina, enquanto as

cepas s1m2 produzem menores quantidades e s2m2 não tem produção de toxina mensurável (CENSINI et al., 1996).

1.4.2 A ilha de patogenicidade *cag*

A ilha de patogenicidade *cag* (*cag*-PAI) (figura 10) é um fragmento de DNA de 35-40 Kb composto por aproximadamente 31 genes e tem sido considerada um dos principais fatores de virulência de *H. pylori* junto com a VacA (citotoxina de vacuolização) e a proteína CagA (citotoxin-associated gene product A) (SMOLKA, 2012; WROBLEWSKI, 2010). Sendo *cag*-PAI a principal responsável pela codificação do sistema de secreção tipo IV, que insere a proteína CagA dentro da células do hospedeiro.

Figura 10 – Representação de *cag*-PAI de *Helicobacter pylori*.



Fonte: Adaptado de Costa (2015).

1.4.2.1 Genes de *cag*-PAI

O gene *cagA* está localizado do lado direito da ilha de patogenicidade *cag*-PAI, sendo considerado um excelente marcador da *cag*-PAI (CENSINI et al., 1996). Codifica uma proteína imuno-dominante 121-145 kDa (CagA) que, uma vez injetada no citoplasma da célula epitelial gástrica, interage com proteínas da célula hospedeira, induzindo alterações morfológicas das células, respostas pró-inflamatórias e mitogênicas, resultando no fenômeno do hummingbird (Beija-flor), que é uma destruição da arquitetura normal da célula epitelial gástrica (COVACCI; RAPPUOLI, 2003). Por sua vez, seu gene está presente em 60-90% das cepas do mundo (GO, 1996). Cepas *cagA* positivas tendem a ser mais virulentas e induzem níveis mais altos de expressão de citotoxinas, tais como *IL-1b* e *IL-8* (CENSINI et al., 1996).

O gene *cagE* (*citotoxin associated* ao gene E) está localizado do lado direito da ilha, sendo um componente do sistema de secreção do tipo IV e também um elemento requerido para a indução de *IL-8* (YAMAZAKI et al., 2005). Segundo Lima *et al* (2011),

cagE é considerado um excelente marcador molecular de *cag-I*, pois está localizado pouco antes da região promotora do *cagA*.

O *cagG* está localizado no lado direito da região. Estudos sugerem que a função deste gene está relacionada com a adesão da bactéria com a célula (MIZUSHIMA, 2002; SAITO, 2005).

O gene *cagM* (presente na região I) juntamente com *cagG* são essenciais para o deslocamento de CagA para as células epiteliais do hospedeiro, assim como estão envolvidos na resposta pró-inflamatória (BUSLER et al, 2006). Ling et. al (2013) demonstrou que a alteração da proteína CagM na célula, impediria a translocação de CagA, pois a proteína CagM integra o canal transmembranar. A expressão de *cagM* pode representar uma primeira linha de defesa de *H. pylori* contra acidez gástrica. Pois alguns estudos mostram que a presença de *cagM* há uma diminuição da expressão de H/K ATPase, inibindo significativamente secreção de ácido pelas células gástricas (SAHA et al, 2010; LINF et al, 2013)

O gene *virB11* (ou HP025Cag) está localizado na metade esquerda da *cag-PAI*, sendo *VirB11* a proteína codificada por esse gene, que possui capacidade transmembranar com atividade ATPase que fornece energia para a montagem do aparelho ou transporte de substrato (CHRISTIE et al., 2005, KUNTTER et al. 2008).

O gene *cagT* está presente na região de *cagII*. Rohde et al (2003) mostraram que cepas de *H. pylori* que não possuíam o gene *cagT*, tinha o sistema de secreção do tipo IV prejudicado. Outros estudos sugerem uma associação do gene *cagT* com o desenvolvimento da úlcera péptica, mostrando a importância desse gene para a infecção (PACHECO et al. 2008, MATTAR et al. 2007).

1.5 PERGUNTA DE PARTIDA

Quais cepas de *H. pylori* estão infectando os pacientes com doenças gástricas como gastrite crônica, metaplasia e câncer no estado do Ceará e Pará?

Existe um aumento de frequência de cepas portadoras dos genes de *cag*-PAI e a variação *vacA* s1m1 com o aumento da gravidade da lesão ?

1.6 HIPÓTESE

A frequência das cepas de *H. pylori* portadoras dos genes *cagA*, *cagE*, *virB11*, e *vacA* s1m1 aumenta de acordo com a gravidade da lesão.

2 OBJETIVOS

2. 1. Objetivo Geral

Determinar as cepas de *Helicobacter pylori*, quanto à presença de genes de *cag-PAI* e a variação alélica de *vacA*, em lesões gástricas de diferentes gravidades nas populações do Ceará e Pará

2. 2. Objetivos Específicos

- Avaliar a frequência dos genes *de cag-PAI* e variação alélica de *vacA* de *Helicobacter pylori* em diferentes lesões gástricas (gastrite, metaplasias e câncer gástrico).
- Comparar a frequência dos genótipos de *Helicobacter pylori* das diferentes lesões gástricas estudados (gastrites, metaplasias e câncer gástrica) nas populações dos Estados do Ceará e Pará.

3 MATERIAIS E METODOS

3.1 Casuística e coleta de dados

Um total de 150 amostras de tumores gástricos intestinais foi obtido a partir de pacientes submetidos a gastrectomias totais ou parciais nos hospitais: Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza (SCMF), Hospital Universitário Walter Cantídeo (HUWC), Hospital Geral César Cals (HGCC), Hospital Geral de Fortaleza e Hospital Ophir Loyola (Belém-PA).

Amostras de biópsias gástricas de 197 pacientes submetidos à endoscopia para investigação de doenças gastroduodenais foram obtidas em três hospitais: Hospital Universitário Walter Cantídeo (HUWC), Hospital São José (HSJ) e Hospital Geral de Fortaleza (HGF).

Os pacientes alvos da pesquisa foram pessoas que se dirigiram a um destes hospitais com queixas dispépticas ou suspeita de doença gástrica e que foram encaminhados ao serviço de endoscopia.

Foram excluídos pacientes anteriormente tratados para infecção por *H. pylori*.

3.2 Aspectos Éticos

A pesquisa com as amostras de tumores foi aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital Geral de Fortaleza sob o protocolo nº 071002/10 e pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Ceará sob o protocolo nº 220/12 (Anexo A).

A pesquisa com os pacientes com lesões gástricas foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio sob o protocolo nº 047.06.09 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Geral de Fortaleza sob o protocolo nº 070714/10.

Ambos observados as normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde de acordo com as resoluções 196/96, 251/97, 292/99, 303/00, 304/00, 347/05, 346/05.

Para cada paciente, foi colhida uma autorização atestando o seu consentimento em participar da pesquisa (Anexo B), foi preenchido um questionário com os dados epidemiológicos e clínico-patológicos através de entrevista com o paciente e por meio de consulta de prontuários (registrados em fichas estruturadas - Anexo C).

3.3 Coleta de dados e material

Os dados epidemiológicos e clínico-patológicos dos pacientes com Câncer Gástrico foram obtidos no momento da entrevista com o paciente, bem como por meio da consulta de prontuários sendo registrados em fichas estruturadas. Os dados histopatológicos tais como subtipo tumoral, profundidade da invasão, acometimento de linfonodos, metástase à distância e estadiamento foram obtidos dos laudos patológicos presentes nos respectivos prontuários.

Os espécimes tumorais frescos foram coletados nos centros cirúrgicos dos respectivos hospitais, imediatamente após a gastrectomia, obedecendo às condições ideais de assepsia de acordo com o protocolo de coleta. Posteriormente, foram levados ao Laboratório de Genética Molecular – LABGEM do Departamento de Patologia e Medicina Legal – DPML, onde foram mantidos em freezer a -80°C .

Todas as amostras dos pacientes submetidos à endoscopia foram coletadas no setor de endoscopia no momento da realização do exame, em condições ideais de assepsia. Na ocasião, dois fragmentos de biópsia de cada região (corpo e antro) foram coletados em frasco estéril sem aditivo. Os mesmos foram identificados e rapidamente transportados em compartimento contendo gelo para o Laboratório de Genética Molecular – LABGEM do Departamento de Patologia e Medicina Legal – DPML, onde foram mantidos em freezer a -80°C , até o momento da extração do DNA.

3.4 Extração do DNA de Espécimes Congelados

A extração de DNA foi realizada no Laboratório de Genética Molecular – LABGEM do Departamento de Patologia e Medicina Legal – DPML.

DNA genômico de alto peso molecular foi obtido através da técnica de extração com o uso do detergente CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide), adaptado do protocolo descrito por Foster e Twell (1996).

- Os fragmentos foram pesados e colocados em volume estabelecido: para cada 0,5g de tecido usar 6 mL de tampão de extração (2% CTAB; 1,4M de NaCl; 20mM de EDTA; 100mM de Tris-HCl pH 8,0; 0,2% de 2-Mercaptoetanol) e incubados em banho Maria a 60°C por 16 horas com algumas inversões.
- Após a incubação, adicionou-se volume igual de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) para purificação, seguido de centrifugação a 2.000 rpm por 15 min.

- Em seguida, a fase superior foi transferida para tubo tipo Falcon estéril de 15mL e o DNA foi precipitado com 2/3 do volume de isopropanol à 100%, centrifugado a 2.000 rpm por 5 min.
- Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi ressuspendido com NaCl 1M, para liberação do complexo DNA-CTAB.
- Em seguida adicionou-se 2,5 volumes de etanol 100% gelado e centrifugado a 2000 rpm por 5 min.
- Em seguida foi lavado com etanol 70% e colocado para secar à 37°C.
- Depois de seco, o DNA foi ressuspendido em 400µl de água Milli-Q estéril com DEPC 0,1% e armazenado em freezer à -14°C.

Para avaliar a qualidade do DNA, cada amostra foi submetida à eletroforese em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo e observado sob transluminador de luz ultravioleta.

Paralelamente, o DNA foi quantificado usando um espectrofotômetro NanoDrop™ 3300 (Wilmington, DE, USA).

Já a extração de sangue foi realizada pelo método salting-out descrito por Miller (1988).

3.5 Genotipagem de *H. pylori*

A detecção da presença de *H. pylori* e de seus respectivos genes foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Em todas as reações, foram usados como controle negativo, um mix de PCR sem amostra de DNA para certificar-se de que o produto final da PCR estava livre de contaminação.

A presença de *H. pylori* nas amostras estudadas foi detectada pela presença da região interna, específica para *H. pylori*, do gene que codifica a proteína urease (*ureC*) (LAGE, et al., 1995). A mistura para PCR foi composta por tampão 1x (Tris-HCl 20mM [pH 8,4], KCl 50 mM), 1,25 U de Platinum Taq DNA Polimerase Invitrogen®; 0,4 mM deoxinucleotídeos tri-fosfato (dNTP); 1,5 mM de MgCl₂; 0,4 µM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 25µL.

Os produtos amplificados nessas reações foram visualizados em gel de poliacrilamida a 6% corado com nitrato de prata.

3.5.1 Presença e subtipos do gene *vacA* de *H. pylori*

3.5.1.1 *vacA* s1 e s2

Os subtipos s1 e s2 foram amplificados em uma mesma reação. A mistura para PCR foi composta por tampão 1x (Tris-HCl 20mM [pH 8,4], KCl 50 mM); 0,1% Tween 20; 1,25 U de Go Taq® Flexi DNA Polimerase (PROMEGA); 0,24 mM deoxinucleotídeos tri-fosfato (dNTP); 1,5 mM de MgCl₂; 0,48 μM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 12,5 μL.

Os produtos amplificados nessas reações foram visualizados em gel de poliacrilamida a 6% corado com nitrato de prata.

3.5.1.2 *vacA* m1 e m2

Os subtipos m1 e m2 foram amplificados individualmente. Para amplificação do subtipo m1 a mistura para PCR foi composta por tampão 1x (Tris-HCl 20mM [pH 8,4], KCl 50 mM), 0,1% de Tween 20, 1,25 U de Platinum Taq DNA Polimerase Invitrogen®; 0,2 mM deoxinucleotídeos tri-fosfato (dNTP); 1,5 mM de MgCl₂; 0,4 μM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 25μL.

Para a amplificação do subtipo m2, foi feita a mistura para PCR contendo tampão 1x (Tris-HCl 20mM [pH 8,4], KCl 50 mM); 0,1% de Tween 20; 1,25 U de Go Taq® Flexi DNA Polimerase (PROMEGA); 0,25 mM deoxinucleotídeos tri-fosfato (dNTP); 1,5 mM de MgCl₂; 0,32 μM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 12,5μL.

Os produtos gerados nessas reações foram visualizados em gel de poliacrilamida 6%, corado com nitrato de prata.

3.5.2 Detecção do gene *cagA*

O gene *cagA* de *H. pylori* foi amplificado em uma mistura para PCR composta por tampão 1x (Tris-HCl 20mM [pH 8,4], KCl 50 mM); 0,1% Tween 20; 1,25 U de Go Taq® Flexi DNA Polimerase (PROMEGA); 0,24 mM deoxinucleotídeos tri-fosfato (dNTP); 1,5 mM de MgCl₂; 0,48 μM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 12,5 μL.

Os produtos gerados foram visualizados em gel de poliacrilamidas a 6% corado com nitrato de prata.

3.5.3 Detecção do gene *cagE*

O gene *cagE* de *H. pylori* foi amplificado em uma mistura para PCR composta por Master Mix 1X, 0,1% Tween 20, 0,48 μM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 20 μL.

Os produtos amplificados nessas reações foram visualizados em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo sob transluminador de luz ultravioleta.

3.5.4 Detecção do gene *virB11*

O gene *virB11* de *H. pylori* foi amplificado em uma mistura contendo 10 μl de Go Taq Master Mix, 0,5 mM de MgCl₂; 0,3 μM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 20 μL.

Os produtos que foram visualizados em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo sob transluminador de luz ultravioleta.

3.5.5 Detecção do gene *cagG*, *cagT*, *cagM*

Os genes *cagG*, *cagT* e *cagM* de *H. pylori* foram amplificados em uma mistura para PCR composta por Master Mix 1X, 0,5 μM de cada oligonucleotídeo iniciador e 100 ng de DNA, adicionada de água estéril suficiente para 20 μL.

Os produtos amplificados nessas reações foram visualizados em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo sob transluminador de luz ultravioleta.

Os Primers utilizados e o tamanho dos fragmentos obtidos para cada gene estão demonstrado na tabela 01.

Tabela 01. Primers, temperatura de anelamento, tamanho dos produtos dos PCRs.

Gene	Primer	Anelamento	Tamanho produto	Referências
<i>ureC</i>	F – 5' -AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT-3' R – 5' -AAGCTTACTTTCTAACACTAACGC-3'	55 °C	294 bp	Lage AP et al., 1995
<i>vacAs1/2</i>	F – 5' -ATGGAAATACAACAACACAC-3' R – 5' -CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'	55 °C	259/286 bp	Lima et al., 2011
<i>m1</i>	F – 5' -GGTCAAAATGCGGTCATGG-3' R – 5' -CCATTGGTACCTGTAGAAAC-3'	55 °C	290 bp	Lima et al., 2011
<i>m2</i>	F – 5' -GGAGCCCCAGGAAACATTG-3' R – 5' -CATAACTAGCGCCTTGAC-3'	52 °C	192 bp	Lima et al., 2011
<i>cagA</i>	F – 5' -ATAATGCTAAATTAGACAACCTTGAGCGA-3' R – 5' -TTAGAATAATCAACAAA CATAACGCCAT-3'	56 °C	297 bp	Lima et al., 2011
<i>cagE</i>	F – 5' -TTGAAAAC TTCAAGGATAGGATAGAGC-3' R – 5' -GCCTAGCGTAATATCACCATTACCC-3'	56 °C	509 bp	Lima et al., 2011
<i>virB11</i>	F – 5' -TTAAATCCTCTAAGGCATGCTAC-3' R – 5' -GATATAAGTCGTTTTACCGCTTC-3'	49 °C	491 bp	Lima et al., 2011
<i>cagG</i>	F – 5' -GCCATGTTAACACCCCTAG-3' R – 5' -TTAATGCGCTAGAATAGTGC-3'	52 °C	497 bp	Hsu et al., 2002
<i>cagM</i>	F-5'-ACAAAATACAAAAAAGAAAAAGAGGC-3' R-5'-ATTTTTCAACAAGTTAGAAAAAGCC-3'	52 °C	587 bp	Hsu et al., 2002
<i>cagT</i>	F-5'- TCTAAAAAGATTACGCTCATAGGCG -3' R-5'- CTTTGGCTTGCATGTTCAAGTTGCC-3'	52 °C	490 bp	Hsu et al., 2002

3.6 Análises Estatísticas

As distribuições genótípicas foram obtidas por contagem direta. Os dados clinicopatológicos e os resultados das PCR's foram demonstrados através de gráficos e tabelas como auxílio dos *softwares* Microsoft Office Excel[®] 2007 e Microsoft Office Word[®] 2007 (Microsoft[®], USA).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os programas estatísticos: EPINFO[®] versão 3.5.1 e SPSS[®] 17.0, realizando-se o Teste do χ^2 e Teste Exato de Fisher. Foram considerados estatisticamente significantes, valores de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1. Caracterização da amostra

Nas amostras de adenocarcinomas gástrico intestinal no estado do Ceará, a mediana da idade dos pacientes foi de 65 anos, variando de 23 a 89 anos. Uma maior porcentagem 72% (56/78) dos pacientes era do sexo masculino, enquanto para as mulheres, essa porcentagem foi 28% (22/78) sendo a relação homem/mulher de 2,54:1. A maioria dos tumores (70,5%) (55/78) estava situados nas regiões de corpo e antro (região não-cárdia), sendo 34,61% (23/78) na cárdia.

Na população do Pará, a mediana da idade dos pacientes foi de 60 anos, variando de 28 a 86 anos. Uma maior porcentagem 68,05% (59/72) dos pacientes era do sexo masculino, enquanto as mulheres representavam 31,94% (23/73) desta população amostral, sendo a relação homem/mulher de 2,13:1.

Nas amostras de lesão gástrica, a mediana da idade dos pacientes foi de 60 anos, variando de 8 a 88. Uma maior porcentagem de mulheres foi observado: 56% (112/197). Enquanto nos homens, essa porcentagem foi de 44% (85/197) dos casos, independente da lesão. Nas gastrites, a frequência nas mulheres foi de 54% (86/155), enquanto os homens representaram 46% (69/155). Nas metaplasias, as mulheres apresentaram maior frequência: 69% (29/42). Enquanto nos homens foi de 31% (13/42).

A infecção por *H. pylori* se mostrou alta, nas lesões gástricas não câncer na população cearense, teve uma frequência de 97%. No câncer gástrico intestinal na população do Ceará a infecção revelou uma frequência de 85%, enquanto no Pará todos os pacientes estavam infectado por *H. pylori*.

4.2 Análises da comparação nas gastrites e metaplasia

A distribuição dos genes de *H. pylori* nas gastrites e metaplasia está apresentada na tabela 2. Considerando a gastrite crônica, apenas 8% dos pacientes apresentaram infecção com cepas contendo *cag*-PAI completa, considerando os genes estudados. Esse padrão de distribuição foi observado também nas metaplasias. De fato, quando se comparado as frequências entre essas lesões observa-se que não houve diferença estatisticamente

significativa entre elas. Vale, no entanto, salientar uma tendência ($p=0,07$) de cepas de HP portadoras do gene *cagE* serem mais frequentes nas metaplasias.

Analisando a correlação nas gastrites (tabela 6) observou que, embora os alelos de *cagA* se diferenciem nas frequências, esse gene se correlaciona positivamente com a maioria dos genes de *cag*-PAI, exceto *cagM*. De modo igual, os genes *cagE* e *virb11* estão fortemente correlacionados tanto nas gastrites como nas metaplasias, contudo os demais genes estudados se correlacionaram de maneira fraca ou moderada.

Agrupando as cepas de acordo com o genótipo de *vacA*, observa-se novamente que as cepas que possuíam o genótipo *cagE* estavam fortemente correlacionadas com cepas com *virb11*, em ambas lesões. Característica semelhante é vista quando se analisa o subtipo “s1m1” de amplas as lesões, onde cepas contendo *cagA* correlacionam-se com a maioria dos genes, como também o gene *virb11* está fortemente correlacionado com *cagE*.

Tabela 2: Frequência dos genes de *H. pylori* em gastrite crônica e metaplasia do Ceará.

	Genes	Gastrite (n=155)		MI (n=42)		p
		n	%	n	%	
<i>vacA</i>	s1m1	106	68	29	69	0,16
	s1m2	27	17	6	14	0,62
	s2m1	11	7	2	4	0,15
	s2m2	10	6	1	2	0,3
	S1	113	72	35	83	0,16
	S2	21	13	3	7	0,26
	m1	117	75	31	73	0,82
	m2	37	23	7	16	0,2
<i>cag</i> -PAI	<i>cagA</i>	91	59	21	50	0,31
	<i>cagE</i>	71	46	20	48	0,07
	<i>cagG</i>	56	36	15	36	0,96
	<i>cagM</i>	41	26	12	29	0,78
	<i>virb11</i>	79	51	19	45	0,51
	<i>cagT</i>	48	31	14	33	0,70
	<i>cag</i> -PAI +	12	8	2	5	0,50
	<i>cag</i> -PAI -	28	18	5	11	0,65

Legenda: *cag*-PAI+: Cepas completas
cag-PAI-: Cepas sem nenhum gene

4.3. Comparação dos genes na gastrites crônica e Câncer Gástrico

A tabela 3 mostra a distribuição de *H. pylori* na gastrite crônica e CG na população cearense.

Considerando os alelos de *vacA*, observou-se que a frequência da combinação *s1m1* foi 10% superior em gastrite comparada com CG. Todavia, as regiões “s2”, “m1” e a combinação “s2m2” mostraram-se estatisticamente diferentes em suas frequências.

Observou-se de modo geral uma maior representação de todos os genes de *cag*-PAI e conseqüentemente, uma maior frequência das cepas com *cag*-PAI completo na população cearense. No CG, 17% pacientes apresentaram infecção com cepas contendo *cag*-PAI completa, contudo, comparando a distribuição das frequências dos genes, foram estatisticamente diferentes somente para os genes *cagA* e *cagT*.

Tabela 3: Frequências dos genes de *H. pylori* em gastrite crônica e câncer gástrico na população do Ceará e Pará.

Genes	Gastrite (n=155)		CG Ceará (n=78)		OR	p
	n	%	n	%		
<i>s1m1</i>	106	68	45	58		0,10
<i>s1m2</i>	27	17	13	17		0,88
<i>s2m1</i>	11	7	1	1		0,24
<i>s2m2</i>	10	6	5	6	5,71	0,02*
<i>s1</i>	113	72	58	74		0,81
<i>s2</i>	21	13	6	8	0,08	0,00*
<i>m1</i>	117	75	41	53	0,4	0,00*
<i>m2</i>	37	23	18	23		0,89
<i>cagA</i>	91	59	36	46	0,57	0,68
<i>cagE</i>	71	46	35	44		0,77
<i>cagG</i>	56	36	35	44		0,33
<i>cagM</i>	41	26	42	53		0,00*
<i>virb11</i>	79	51	41	52		0,36
<i>cagT</i>	48	31	51	65	5,41	0,00*
<i>cag</i> -PAI +	12	8	14	17	2,61	0,57

Legenda: *cag*-PAI+: Cepas completas

4.3.2 Comparação dos genes *H. pylori* na Metaplasia Intestinal e Câncer Gástrico do Ceará

A distribuição dos genes de *H. pylori* na metaplasia intestinal e CG estão apresentados na tabela 4.

Considerando a população cearense, observou-se uma diferença da frequência superior a 19% nos alelos “s1”, “m1” e na combinação “s1m1”. Porém, somente o alelo “m1” mostrou uma diferença significativa quando comparado a MI e CG. Em geral, na MI observou a uma maior frequência na maioria dos genes comparados a CG, porem sem diferença estatística.

Analisando a *cag*-PAI, somente os genes *cagM* e *cagT* possuíam diferença superior a 24% das frequências. Do mesmo modo, somente esses genes possuíram diferença significativa, uma vez comparado.

Tabela 4: Frequências dos genes de *H. pylori* em metaplasia intestinal e câncer gástrico na população do Ceará e Pará

	MI (n=42)		CG Ceará (n=78)		OR	p	
	n	%	n	%			
s1m1	29	69	45	58	0,39	0,22	
s1m2	6	14	13	17		0,73	
s2m1	2	4	1	1		0,24	
s2m2	1	2	5	6		0,33	
s1	35	83	58	74		0,26	
s2	3	7	6	8		0,91	
m1	31	73	41	53		0,02*	
m2	7	16	18	23		0,40	
<i>cagA</i>	21	50	36	46	2,92	0,68	
<i>cagE</i>	20	48	35	44		0,77	
<i>cagG</i>	15	36	35	44		0,33	
<i>cagM</i>	12	29	42	53		0,00*	
<i>virb11</i>	19	45	41	52		0,36	
<i>cagT</i>	14	33	51	65		3,78	0,00*
<i>cag</i> -PAI +	5	11	14	17		0,057	

Legenda: *cag*-PAI+: Cepas completas

4.4 Comparação dos genes de *H. pylori* no câncer gástrico nas diferentes populações

A tabela 5 apresenta a frequência dos genes de *H. pylori* no CG de ambas as populações.

Analisando os alelos de *vacA*, *s1*, *m1* e *s1m1* mostraram-se os mais frequentes, embora nenhum dos alelos ou combinação apresentou uma diferença superior de 5% nas frequências. Quando comparadas as populações não houve significância estatística.

Considerando a *cag*-PAI, somente os genes *cagE* e *virb11* apresentaram diferença na frequência gênica superior a 10%, apresentando diferença significativa no Pará quando comparado às populações.

A tabela 8 apresenta as correlações dos genes de *cag*-PAI de *H. pylori* no CG na população cearense.

Em relação aos genes de *cag*-PAI, observou-se a correlação dos genes *cagE* e *virb11* com intensidade alta.

Analisando a correlação da região “s1”, destaca-se a relação intensa entre os genes *cagE* e *virb11*, como também dos genes *cagA*, *cagT* e *cagG* (tabela 8). Na região “s2”, os genes *cagE* e *virb11* possuem 100% de correlação. As cepas que possuíam *s1/m1*, *cagE* e *virb11* estavam fortemente relacionados.

Considerando as cepas *s1m1* observaram-se cepas com os genes *cagE* e *virb11*, fortemente correlacionada (89%), embora *cagE* se relacione com *cagG* de forma moderada (31%).

Por fim, cepas mistas (*s1m2* ou *s2m1*), observou-se cepas com os genes *cagE* e *virb11*, fortemente correlacionada (69%), o mesmo para a correlação entre os genes *cagA* e *cagT* (50%).

Nas amostras do Pará, de forma geral, os alelos de *vacA* se correlacionam com metade dos genes de *cag*-PAI de forma fraca (tabela 9). Observa-se também a relação moderada dos genes *cagE* e *virb11*.

Analisando a região “s1” de *vacA*, nota-se a correlação, com intensidade baixa, do *virb11* com *cagE* e *cagA*. O mesmo padrão foi observado no subtipo “s1/m1”. Contudo, as cepas mistas apresentavam 100% de correlação negativa dos genes *cagA* e *virb11*.

Tabela 5: Frequências dos genes de *H. pylori* em câncer gástrico na população do Ceará e Pará

	Genes	CG Ceará (n=78)		CG Pará (n=72)		OR	p
		n	%	n	%		
<i>vacA</i>	s1m1	45	58	44	61		0,67
	s1m2	13	17	13	18		0,82
	s2m1	1	1	5	7		0,07
	s2m2	5	6	10	14		0,12
	s1	58	74	57	79		0,48
	s2	6	8	15	21		0,1
	m1	41	53	49	68		0,1
	s2	18	23	23	32		0,22
<i>cag</i> -PAI	<i>cagA</i>	36	46	43	59		0,09
	<i>cagE</i>	35	44	63	80	0,12	0
	<i>cagG</i>	35	44	39	54		0,25
	<i>cagM</i>	42	53	41	56		0,7
	<i>virb11</i>	41	52	52	72	0,43	0,01
	<i>cagT</i>	51	65	45	62		0,71
	<i>cag</i> -PAI +	14	17	6	8		0,08

Legenda: *cag*-PAI+: Cepas completas

Tabela 06: Correlação dos genes de *cag*-PAI na gastrite crônica

			Geral					
			<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,436**	,429**	,193*	,112	,295**
		Sig. (2-tailed)		,000	,000	,016	,164	,000
		N	155	155	155	155	155	155
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,436**	1	,617**	,322**	,281**	,325**
		Sig. (2-tailed)	,000		,000	,000	,000	,000
		N	155	155	155	155	155	155
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,429**	,617**	1	,420**	,333**	,506**
		Sig. (2-tailed)	,000	,000		,000	,000	,000
		N	155	155	155	155	155	155
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,193*	,322**	,420**	1	,281**	,452**
		Sig. (2-tailed)	,016	,000	,000		,000	,000
		N	155	155	155	155	155	155
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,112	,281**	,333**	,281**	1	,371**
		Sig. (2-tailed)	,164	,000	,000	,000		,000
		N	155	155	155	155	155	155
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,295**	,325**	,506**	,452**	,371**	1
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	
		N	155	155	155	155	155	155

			s1					
			<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,448**	,390**	,189*	,076	,246**
		Sig. (2-tailed)		,000	,000	,029	,382	,004
		N	134	134	134	134	134	134
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,448**	1	,629**	,353**	,259**	,327**
		Sig. (2-tailed)	,000		,000	,000	,002	,000
		N	134	134	134	134	134	134
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,390**	,629**	1	,437**	,318**	,506**
		Sig. (2-tailed)	,000	,000		,000	,000	,000
		N	134	134	134	134	134	134
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,189*	,353**	,437**	1	,277**	,464**
		Sig. (2-tailed)	,029	,000	,000		,001	,000
		N	134	134	134	134	134	134
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,076	,259**	,318**	,277**	1	,348**

	Sig. (2-tailed)	,382	,002	,000	,001		,000
	N	134	134	134	134	134	134
<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,246**	,327**	,506**	,464**	,348**	1
	Sig. (2-tailed)	,004	,000	,000	,000	,000	
	N	134	134	134	134	134	134

		s2						
		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,277	,553**	,000	,171	,577**
		Sig. (2-tailed)		,224	,009	1,000	,457	,006
		N	21	21	21	21	21	21
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,277	1	,482*	-,040	,369	,240
		Sig. (2-tailed)	,224		,027	,863	,100	,294
		N	21	21	21	21	21	21
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,553**	,482*	1	,091	,298	,411
		Sig. (2-tailed)	,009	,027		,694	,189	,064
		N	21	21	21	21	21	21
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,000	-,040	,091	1	,149	,222
		Sig. (2-tailed)	1,000	,863	,694		,521	,333
		N	21	21	21	21	21	21
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,171	,369	,298	,149	1	,495*
		Sig. (2-tailed)	,457	,100	,189	,521		,022
		N	21	21	21	21	21	21
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,577**	,240	,411	,222	,495*	1
		Sig. (2-tailed)	,006	,294	,064	,333	,022	
		N	21	21	21	21	21	21

		s1m1						
		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,702**	,593**	,261	,194	,299*
		Sig. (2-tailed)		,000	,000	,059	,164	,030
		N	53	53	53	53	53	53
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,702**	1	,628**	,287*	,226	,237
		Sig. (2-tailed)	,000		,000	,037	,104	,088
		N	53	53	53	53	53	53
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,593**	,628**	1	,206	,338*	,463**
		Sig. (2-tailed)	,000	,000		,139	,013	,000
		N	53	53	53	53	53	53

<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,261	,287*	,206	1	,139	,329*
	Sig. (2-tailed)	,059	,037	,139		,320	,016
	N	53	53	53	53	53	53

		s1m2/s2m1						
		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,298**	,312**	,123	,128	,241*
		Sig. (2-tailed)		,008	,005	,281	,260	,032
		N	79	79	79	79	79	79
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,298**	1	,596**	,331**	,293**	,383**
		Sig. (2-tailed)	,008		,000	,003	,009	,000
		N	79	79	79	79	79	79
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,312**	,596**	1	,512**	,371**	,564**
		Sig. (2-tailed)	,005	,000		,000	,001	,000
		N	79	79	79	79	79	79
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,123	,331**	,512**	1	,399**	,515**
		Sig. (2-tailed)	,281	,003	,000		,000	,000
		N	79	79	79	79	79	79
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,128	,293**	,371**	,399**	1	,481**
		Sig. (2-tailed)	,260	,009	,001	,000		,000
		N	79	79	79	79	79	79
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,241*	,383**	,564**	,515**	,481**	1
		Sig. (2-tailed)	,032	,000	,000	,000	,000	
		N	79	79	79	79	79	79

		s2m2						
		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,612	,356	,102	-,089	,612
		Sig. (2-tailed)		,060	,312	,779	,807	,060
		N	10	10	10	10	10	10
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,356	,764*	1	,218	,524	,218
		Sig. (2-tailed)	,312	,010		,545	,120	,545
		N	10	10	10	10	10	10
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,612	1	,764*	,375	,218	,375
		Sig. (2-tailed)	,060		,010	,286	,545	,286
		N	10	10	10	10	10	10
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,102	,375	,218	1	,218	,375
		Sig. (2-tailed)	,779	,286	,545		,545	,286
		N	10	10	10	10	10	10
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	-,089	,218	,524	,218	1	,218
		Sig. (2-tailed)	,807	,545	,120	,545		,545

	N	10	10	10	10	10	10
cagM	Correlation Coefficient	,612	,375	,218	,375	,218	1
	Sig. (2-tailed)	,060	,286	,545	,286	,545	
	N	10	10	10	10	10	10

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabela 07: Correlação dos genes de *cag*-PAI na metaplasia

			Geral					
			<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,077	,099	,392**	,300*	,000
		Sig. (2-tailed)		,544	,435	,001	,016	1,000
		N	64	64	64	64	64	63
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,077	1	,786**	,090	,267*	,139
		Sig. (2-tailed)	,544		,000	,478	,033	,278
		N	64	64	64	64	64	63
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,099	,786**	1	,243	,369**	,158
		Sig. (2-tailed)	,435	,000		,053	,003	,217
		N	64	64	64	64	64	63
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,392**	,090	,243	1	,243	-,028
		Sig. (2-tailed)	,001	,478	,053		,053	,829
		N	64	64	64	64	64	63
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,300*	,267*	,369**	,243	1	,113
		Sig. (2-tailed)	,016	,033	,003	,053		,378
		N	64	64	64	64	64	63
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,000	,139	,158	-,028	,113	1
		Sig. (2-tailed)	1,000	,278	,217	,829	,378	
		N	64	64	64	64	64	64

s1

			<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,128	,035	,365**	,228	-,023
		Sig. (2-tailed)		,339	,795	,005	,085	,866
		N	58	58	58	58	58	58
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,128	1	,802**	,289*	,400**	,093
		Sig. (2-tailed)	,339		,000	,028	,002	,485
		N	58	58	58	58	58	58
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,035	,802**	1	,037	,234	,008
		Sig. (2-tailed)	,795	,000		,782	,077	,951

	N	58	58	58	58	58	58
<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,365**	,289*	,037	1	,219	-,039
	Sig. (2-tailed)	,005	,028	,782		,099	,769
	N	58	58	58	58	58	58
<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,228	,400**	,234	,219	1	,117
	Sig. (2-tailed)	,085	,002	,077	,099		,380
	N	58	58	58	58	58	58
<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	-,023	,093	,008	-,039	,117	1
	Sig. (2-tailed)	,866	,485	,951	,769	,380	
	N	58	58	58	58	58	58

s1m1

		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,632**	,707**	,632**	,471*	,000
		Sig. (2-tailed)		,005	,001	,005	,048	1,000
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,632**	1	,894**	,775**	,224	,079
		Sig. (2-tailed)	,005		,000	,000	,372	,755
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,707**	,894**	1	,671**	,333	,236
		Sig. (2-tailed)	,001	,000		,002	,176	,346
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,632**	,775**	,671**	1	,224	,079
		Sig. (2-tailed)	,005	,000	,002		,372	,755
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,471*	,224	,333	,224	1	,000
		Sig. (2-tailed)	,048	,372	,176	,372		1,000
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,000	,079	,236	,079	,000	1
		Sig. (2-tailed)	1,000	,755	,346	,755	1,000	
		N	18	18	18	18	18	18

		s1m2/s2m1						
		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,056	,181	,426	,290	,167
		Sig. (2-tailed)		,832	,488	,088	,259	,521
		N	17	17	17	17	17	17
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,056	1	,181	-,091	,044	,426
		Sig. (2-tailed)	,832		,488	,728	,868	,088
		N	17	17	17	17	17	17
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,181	,181	1	,091	-,044	-,167
		Sig. (2-tailed)	,488	,488		,728	,868	,521
		N	17	17	17	17	17	17
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,426	-,091	,091	1	,064	,150
		Sig. (2-tailed)	,088	,728	,728		,808	,566
		N	17	17	17	17	17	17
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,290	,044	-,044	,064	1	,064
		Sig. (2-tailed)	,259	,868	,868	,808		,808
		N	17	17	17	17	17	17
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,167	,426	-,167	,150	,064	1
		Sig. (2-tailed)	,521	,088	,521	,566	,808	
		N	17	17	17	17	17	17

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabela 08: Correlação dos genes de *cag*-PAI no câncer gástrico no Ceará

			Geral						
			<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,077	,099	,392**	,300*	,000	
		Sig. (2-tailed)		,544	,435	,001	,016	1,000	
		N	64	64	64	64	64	63	
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,077	1	,786**	,090	,267*	,139	
		Sig. (2-tailed)	,544		,000	,478	,033	,278	
		N	64	64	64	64	64	63	
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,099	,786**	1	,243	,369**	,158	
		Sig. (2-tailed)	,435	,000		,053	,003	,217	
		N	64	64	64	64	64	63	
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,392**	,090	,243	1	,243	-,028	
		Sig. (2-tailed)	,001	,478	,053		,053	,829	
		N	64	64	64	64	64	63	
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,300*	,267*	,369**	,243	1	,113	
		Sig. (2-tailed)	,016	,033	,003	,053		,378	
		N	64	64	64	64	64	63	
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	,000	,139	,158	-,028	,113	1	
		Sig. (2-tailed)	1,000	,278	,217	,829	,378		
		N	64	64	64	64	64	64	
				S1					
				<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>
	Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,128	,035	,365**	,228	-,023
			Sig. (2-tailed)		,339	,795	,005	,085	,866
			N	58	58	58	58	58	58
		<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,128	1	,802**	,289*	,400**	,093
Sig. (2-tailed)			,339		,000	,028	,002	,485	
N			58	58	58	58	58	58	
<i>cagE</i>		Correlation Coefficient	,035	,802**	1	,037	,234	,008	
		Sig. (2-tailed)	,795	,000		,782	,077	,951	
		N	58	58	58	58	58	58	
<i>cagT</i>		Correlation Coefficient	,365**	,289*	,037	1	,219	-,039	
		Sig. (2-tailed)	,005	,028	,782		,099	,769	
		N	58	58	58	58	58	58	
<i>cagG</i>		Correlation Coefficient	,228	,400**	,234	,219	1	,117	
		Sig. (2-tailed)	,085	,002	,077	,099		,380	

	N	58	58	58	58	58	58
cagM	Correlation Coefficient	-,023	,093	,008	-,039	,117	1
	Sig. (2-tailed)	,866	,485	,951	,769	,380	

		s2						
		cagA	virb11	cagE	cagT	cagG	cagM	
Spearman's rho	cagA	Correlation Coefficient	1	-,408	-,408	,408	,612	-,667
		Sig. (2-tailed)		,495	,495	,495	,272	,219
		N	5	5	5	5	5	5
	virb11	Correlation Coefficient	-,408	1,000**	1	,250	-,250	,612
		Sig. (2-tailed)	,495	,000		,685	,685	,272
		N	5	5	5	5	5	5
	cagE	Correlation Coefficient	-,408	1	1,000**	,250	-,250	,612
		Sig. (2-tailed)	,495		,000	,685	,685	,272
		N	5	5	5	5	5	5
	cagT	Correlation Coefficient	,408	,250	,250	1	,250	-,612
		Sig. (2-tailed)	,495	,685	,685		,685	,272
		N	5	5	5	5	5	5
	cagG	Correlation Coefficient	,612	-,250	-,250	,250	1	-,408
		Sig. (2-tailed)	,272	,685	,685	,685		,495
		N	5	5	5	5	5	5
	cagM	Correlation Coefficient	-,667	,612	,612	-,612	-,408	1
		Sig. (2-tailed)	,219	,272	,272	,272	,495	
		N	5	5	5	5	5	5

		s1m1						
		cagA	virb11	cagE	cagT	cagG	cagM	
Spearman's rho	cagA	Correlation Coefficient	1	,069	,018	,149	,043	-,194
		Sig. (2-tailed)		,666	,910	,348	,787	,219
		N	42	42	42	42	42	42
	virb11	Correlation Coefficient	,069	1	,898**	,021	,291	-,003
		Sig. (2-tailed)	,666		,000	,895	,061	,987
		N	42	42	42	42	42	42
	cagE	Correlation Coefficient	,018	,898**	1	,122	,316*	,146
		Sig. (2-tailed)	,910	,000		,443	,041	,357

	N	42	42	42	42	42	42
<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,149	,021	,122	1	,000	,021
	Sig. (2-tailed)	,348	,895	,443		1,000	,895
	N	42	42	42	42	42	42
<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,043	,291	,316*	,000	1	,182
	Sig. (2-tailed)	,787	,061	,041	1,000		,248
	N	42	42	42	42	42	42
<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	-,194	-,003	,146	,021	,182	1
	Sig. (2-tailed)	,219	,987	,357	,895	,248	
	N	42	42	42	42	42	42

s1m2/s2m1

		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	-,395	-,175	,500*	,351	-,079
		Sig. (2-tailed)		,104	,486	,035	,153	,755
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	-,395	1	,693**	-,079	-,055	,125
		Sig. (2-tailed)	,104		,001	,755	,827	,621
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	-,175	,693**	1	,439	,169	,055
		Sig. (2-tailed)	,486	,001		,069	,502	,827
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,500*	-,079	,439	1	,439	-,395
		Sig. (2-tailed)	,035	,755	,069		,069	,104
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,351	-,055	,169	,439	1	-,194
		Sig. (2-tailed)	,153	,827	,502	,069		,440
		N	18	18	18	18	18	18
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	-,079	,125	,055	-,395	-,194	1
		Sig. (2-tailed)	,755	,621	,827	,104	,440	
		N	18	18	18	18	18	18

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabela 09: Correlação dos genes de *cag*-PAI no câncer gástrico no Pará

			Geral						
			<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,180	-,058	-,046	,168	-,142	
		Sig. (2-tailed)		,132	,630	,709	,167	,245	
		N	71	71	71	69	69	69	
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,180	1	,420**	-,041	-,148	-,047	
		Sig. (2-tailed)	,132		,000	,735	,225	,702	
		N	71	71	71	69	69	69	
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	-,058	,420**	1	-,102	,008	,030	
		Sig. (2-tailed)	,630	,000		,404	,951	,804	
		N	71	71	71	69	69	69	
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	-,046	-,041	-,102	1	-,149	-,170	
		Sig. (2-tailed)	,709	,735	,404		,220	,163	
		N	69	69	69	69	69	69	
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,168	-,148	,008	-,149	1	,228	
		Sig. (2-tailed)	,167	,225	,951	,220		,060	
		N	69	69	69	69	69	69	
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	-,142	-,047	,030	-,170	,228	1	
		Sig. (2-tailed)	,245	,702	,804	,163	,060		
		N	69	69	69	69	69	69	
				s1					
				<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>
	Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,339*	-,042	-,031	,187	-,102
			Sig. (2-tailed)		,011	,757	,824	,180	,464
			N	56	56	56	54	53	54
		<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,339*	1	,312*	,007	-,137	-,106
Sig. (2-tailed)			,011		,019	,962	,329	,444	
N			56	56	56	54	53	54	
<i>cagE</i>		Correlation Coefficient	-,042	,312*	1	-,137	-,083	,029	
		Sig. (2-tailed)	,757	,019		,323	,552	,837	
		N	56	56	56	54	53	54	
<i>cagT</i>		Correlation Coefficient	-,031	,007	-,137	1	-,177	-,138	
		Sig. (2-tailed)	,824	,962	,323		,206	,318	
		N	54	54	54	54	53	54	
<i>cagG</i>		Correlation Coefficient	,187	-,137	-,083	-,177	1	,017	

	Sig. (2-tailed)	,180	,329	,552	,206		,904
	N	53	53	53	53	53	53
<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	-,102	-,106	,029	-,138	,017	1

		s2						
		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	-,447	-,174	,000	,174	-,522
		Sig. (2-tailed)		,109	,552	1,000	,552	,055
		N	14	14	14	14	14	14
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	-,447	1	,701**	-,141	-,337	,026
		Sig. (2-tailed)	,109		,005	,630	,238	,930
		N	14	14	14	14	14	14
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	-,174	,701**	1	,055	-,152	-,152
		Sig. (2-tailed)	,552	,005		,852	,605	,605
		N	14	14	14	14	14	14
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	,000	-,141	,055	1	-,055	-,440
		Sig. (2-tailed)	1,000	,630	,852		,852	,115
		N	14	14	14	14	14	14
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,174	-,337	-,152	-,055	1	,152
		Sig. (2-tailed)	,552	,238	,605	,852		,605
		N	14	14	14	14	14	14
	<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	-,522	,026	-,152	-,440	,152	1
		Sig. (2-tailed)	,055	,930	,605	,115	,605	
		N	14	14	14	14	14	14

		s1m1						
		<i>cagA</i>	<i>virb11</i>	<i>cagE</i>	<i>cagT</i>	<i>cagG</i>	<i>cagM</i>	
Spearman's rho	<i>cagA</i>	Correlation Coefficient	1	,416**	,047	-,119	,262	,111
		Sig. (2-tailed)		,008	,774	,476	,112	,506
		N	40	40	40	38	38	38
	<i>virb11</i>	Correlation Coefficient	,416**	1	,151	,027	-,073	-,108
		Sig. (2-tailed)	,008		,352	,871	,663	,517
		N	40	40	40	38	38	38
	<i>cagE</i>	Correlation Coefficient	,047	,151	1	,012	-,160	-,122
		Sig. (2-tailed)	,774	,352		,941	,337	,467
		N	40	40	40	38	38	38
	<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	-,119	,027	,012	1	-,191	,027
		Sig. (2-tailed)	,476	,871	,941		,251	,871
		N	38	38	38	38	38	38
	<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,262	-,073	-,160	-,191	1	,205
		Sig. (2-tailed)	,112	,663	,337	,251		,218

	N	38	38	38	38	38	38
cagM	Correlation Coefficient	,111	-,108	-,122	,027	,205	1
	Sig. (2-tailed)	,506	,517	,467	,871	,218	
	N	38	38	38	38	38	38

			s1m2/s2m1					
			cagA	virb11	cagE	cagT	cagG	cagM
Spearman's rho	cagA	Correlation Coefficient	1	,238	-,051	,222	,040	-,630**
		Sig. (2-tailed)		,375	,851	,409	,887	,009
		N	16	16	16	16	15	16
	virb11	Correlation Coefficient	,238	1	,493	-,101	-,262	-,378
		Sig. (2-tailed)	,375		,053	,710	,346	,149
		N	16	16	16	16	15	16
	cagE	Correlation Coefficient	-,051	,493	1	-,324	-,023	-,135
		Sig. (2-tailed)	,851	,053		,221	,936	,619
		N	16	16	16	16	15	16
	cagT	Correlation Coefficient	,222	-,101	-,324	1	,075	-,160
		Sig. (2-tailed)	,409	,710	,221		,789	,554
		N	16	16	16	16	15	16
	cagG	Correlation Coefficient	,040	-,262	-,023	,075	1	-,262
		Sig. (2-tailed)	,887	,346	,936	,789		,346
		N	15	15	15	15	15	15
	cagM	Correlation Coefficient	-,630**	-,378	-,135	-,160	-,262	1
		Sig. (2-tailed)	,009	,149	,619	,554	,346	
		N	16	16	16	16	15	16

			S2m2					
			cagA	virb11	cagE	cagT	cagG	cagM
Spearman's rho	cagA	Correlation Coefficient	1	-1,000**	-,598	-,060	,395	-,316
		Sig. (2-tailed)		,000	,089	,879	,292	,407
		N	9	9	9	9	9	9
	virb11	Correlation Coefficient	-1,000**	1	,598	,060	-,395	,316
		Sig. (2-tailed)	,000		,089	,879	,292	,407
		N	9	9	9	9	9	9
	cagE	Correlation Coefficient	-,598	,598	1	,357	,189	,189
		Sig. (2-tailed)						

	Sig. (2-tailed)	,089	,089		,345	,626	,626
	N	9	9	9	9	9	9
<i>cagT</i>	Correlation Coefficient	-,060	,060	,357	1	,189	-,661
	Sig. (2-tailed)	,879	,879	,345		,626	,052
	N	9	9	9	9	9	9
<i>cagG</i>	Correlation Coefficient	,395	-,395	,189	,189	1	-,125
	Sig. (2-tailed)	,292	,292	,626	,626		,749
	N	9	9	9	9	9	9
<i>cagM</i>	Correlation Coefficient	-,316	,316	,189	-,661	-,125	1
	Sig. (2-tailed)	,407	,407	,626	,052	,749	
	N	9	9	9	9	9	9

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

5. DISCUSSÃO

5.1 Lesões Gástricas: Caracterização e Aspectos clínicos-epidemiológicos

Assim como em outros estudos com pacientes dispépticos, a gastrite crônica foi a lesão mais frequente (75,6% dos casos) (NAYLOR et al., 2006; ARRUDA et al., 2009). Contudo a frequência das metaplasias encontradas neste estudo está dentro da frequência relatada na literatura (MAGALHÃES et al. 2005). Neste estudo, as mulheres foram mais afetadas que os homens, corroborando com dados de outros estudos (NOGUEIRA et al., 2001; MÓDENA et al., 2007; ARRUDA et al., 2009), inclusive estudos realizados no Brasil (ROTA et al., 2001).

5.2. Detecção da infecção por *H. pylori* nas Gastrites Crônicas e Metaplasias Intestinais.

A positividade da infecção por *H. pylori* mostrou-se alta nos casos coletados neste estudo, sendo de 97,5% na amostra geral. Inúmeros estudos associam os genes já bem estabelecidos como genes de virulência, *cagA* e a determinação dos alelos de *vacA*.

Nas gastrites, a combinação *vacA* s1m1 foi o alelo encontrado com maior frequência (68%), sendo que os alelos s1 e m1 individualmente foram também os mais frequentes, semelhantes as encontradas em outros estudos (NOGUEIRA et al., 2001; MÓDENA et al., 2006; KUMAR; KUMAR; DIXIT, 2011).

Uma alta frequência (59%) do gene *cagA* foi também encontrada, entretanto menor em relação aos estudos anteriormente citados, cujas frequências variaram de 60% a 100% (RUDI et al., 1998; RAMIS et al., 2010).

Quando os casos foram categorizados por lesão, cepas portadoras do gene *cagA* foram encontradas em maior frequência (59%) na gastrite crônica, com percentagem semelhantes às relatadas em outros estudos (RUDI et al., 1998; RAMIS et al., 2010). Entretanto, Nogueira e colaboradores (2001) afirmaram existir uma forte associação entre a presença do gene *cagA* e a presença de metaplasia intestinal. Este gene foi detectado em menor frequência nessa lesão do que quando comparada com as gastrites.

Considerado como um fator de virulência já bem estabelecido de *H. pylori*, a proteína do gene *vacA* é importante nos processos de adaptação da bactéria e de lesão celular, sendo a combinação s1m1 considerada a mais virulenta por vários autores (ATHERTON et al., 1995; SZABO et al., 1999; LIMA; RABENHORST, 2009). Os alelos s1 e m1 foram os

mais frequentes nas diferentes lesões, gastrite crônica (s1-72%; m1-75%) e metaplasia (s1-83%; m1-73%). Outros estudos relatam a correlação do alelo s1 e m1 tanto na gastrite quanto na metaplasia (NOQUEIRA et al. 2001; FRANCESCO et al., 2009). A segunda combinação alélica mais frequente, o *vacA* s1m2. Assim como encontrado no presente estudo, outros estudos também encontraram as combinações s1m1 e s1m2 de *vacA* como as combinações mais frequentes associadas a lesões gástricas (KAGUE et. Al., 2010; KUMAR; DIXIT, 2011).

Outro gene estudado foi o *cagE*. Este, além de participar da montagem dos sistema de secreção do tipo IV do aparato secretório é também requerido na indução de IL-8 (YAMAZAKI et al., 2005). Não houve diferença significativa das frequências quando comparadas gastrites e metaplasia. Suas frequências estavam relativamente altas, 46 e 48%, porém menores do que as reportadas em outros estudos com *cagE* em pacientes com gastrite e com metaplasia intestinal, (QUIROGA; CITTELLY; BRAVO, 2005).

Codificada pelo gene *virB11*, a proteína VirB11, também é importante na montagem do sistema de secreção do tipo IV e por ser um membro da família das ATPases, está relacionada a transferência de energia (CHRISTIE; CASCALES, 2003) O gene *virB11* foi encontrado em frequências razoáveis na gastrite crônica (46%) e metaplasia intestinal (48%), muito diferente do encontrado em outro estudo realizado no Brasil (PACHECO et al 2008).

5.3 Análise comparativa da infecção por *H. pylori* na Gastrite Crônica e Metaplasia com Câncer Gástrico

Como mencionado anteriormente, a combinação s1m1 é considerada a mais virulenta, sendo os s1 e m1 foram os mais frequentes no CG nas amostras do Ceará. Em contrapartida, foram os s2, m1 e a combinação s2m2 significativamente diferentes quando comparadas as gastrites com o CG do Ceará. Como mostram outros estudos pela alta frequência de s1 em CG (ROMÁM et al., 2017; THOMAZINI et al., 2006; LADEIRA et al., 2008).

A composição da ilha *cag* em isolados clínicos de *H. pylori* tem sido estudada em diferentes populações por vários métodos e sua integridade está fortemente relacionada à sua patogenicidade. A presença da ilha *cag*-PAI, possibilita a expressão simultânea da maquinaria sistema de secreção do tipo IV (T4SS) com a consequente injeção de *cagA*, que associada à presença de *vacA*, poderia provocar uma forte resposta inflamatória na mucosa

gastroduodenal humana, resultando em dano tecidual e ulceração (MAEDA et al., 1999; PACHECO et al., 2008).

As frequências dos genes de *cag*-PAI na população do Ceará foram semelhantes, exceto os genes *cagA* e *cagT*, os quais apresentaram diferença significativa.

Na metaplasia, observa-se o mesmo padrão das gastrites: a maioria dos genes de *cag*-PAI não apresentam diferença nas frequências, mesmo modo os alelos de *vacA*,

5.4 Análise da frequência de Câncer Gástrico nas diferentes populações.

Quando comparadas, as populações não diferem nas frequências, demonstrados pela ausência de diferença nos alelos *vacA*, mostrando sua importância para a progressão do CG.

Entretanto as cepas portadores de *cag*-PAI mostraram distribuição uniforme no Ceará, enquanto nas amostras do Pará, os genes *cagE* e *virb11* foram estatisticamente mais frequentes do que no Ceará. Esses dados revelam que no mesmo país *H. pylori* tem diagnósticos diferentes, mostrando que os diferentes graus de integridade de *cag*-PAI está relacionado com a distribuição geográfica, como mostra outro estudo (KAUSER et al., 2000).

Assim, levando-se em consideração que a gastrite crônica, pode levar ao aparecimento de metaplasia intestinal, a qual pode evoluir para lesões mais graves, dependente da cepa de *H. pylori*, os dados aqui apresentados corroboram com a participação dos genes *cagA*, e *vacA* s1 na patogenicidade da bactéria e apontam para a relevância dos genes *virb11* e *cagE*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Na população do Ceará e do Pará, a infecção por *H. pylori* foi observada em alta frequência em todos os tipos de lesão;
- As lesões gástricas foram predominantemente localizadas no antro;
- Os genes *vacAs1m1*, *cagA*, *cagE* e *virB11* de *H. pylori* são potencialmente bons marcadores de valor prognóstico para a progressão para lesões mais graves;
- O alelo *vacAs1* mostrou-se marcador mais acurado para a determinação da virulência e associação com gravidade da lesão que a combinação *vacAs1m1*;
- As frequências dos genes *virb11* e *cagE* diferem-se significativamente no câncer gástrico entre as populações do Ceará e Pará, sendo maior no ultimo.

REFERÊNCIA

- ARRUDA, S. M. B.; FORONES, N. M.; JUCÁ, N. T.; BARROS, K. S. C. Could gastric histology be a useful marker for making decision on *Helicobacter pylori* eradication therapy in patients with dyspepsia? **Arq. Gastroenterol.**, v. 46, n.3, p. 209-213, 2009.
- ATHERTON, J. C.; CAO, P.; PEEK, R. M.; TUMMURU, M. K.; BLASER, M. J.; COVER, T. L. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. **J. Biol. Chem.**, v. 30, n. 270, p. 17771-17777, 1995.
- BACKERT, S., SCHMIDT, T.P., HARRER, S., WESSLER, S. Exploiting the Gastric Epithelial Barrier: *Helicobacter pylori*'s Attack on Tight and Adherens Junctions. **Curr Top Microbiol Immunol.** 2017. 400:195-226.
- BLASER, M. J.; ATHERTON, J. C. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. **J. Clin. Invest.**, v. 113, p. 321–333, 2004.
- BLASER, M. J.; BERG, D. E. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. **J. Clin. Invest.**, v.7, n. 107, p. 767-773, 2001.
- BLASER, M. J.; BERG, D. E. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. **J. Clin. Invest.**, v.7, n. 107, p. 767-773, 2001.
- BUSLER, V. J. ; TORRES, V. J.; MCCLAIN, M. S.; TIRADO, O. ; FRIEDMAN, D. B. ; COVER, T. L. Protein-protein interactions among *Helicobacter pylori* *cag* proteins. **J Bacteriol**, v.13, p.:4787-800,2006.
- CENSINI, S.; LANGE, C.; XIANG, Z.; CRABTREE, J. E.; GHIARA, P.; BORODOVSKY, M.; RAPPUOLI, R.; COVACCI, A. *Cag*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease associated virulence factors. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 25, n. 93, p. 14648–14653, 1996.
- CÉSAR, A. C. G.; SILVA, A. E., TAJARA, E. H. Fatores Genéticos e Ambientais Envolvidos na Carcinogênese Gástrica. **Arq Gastroenterol** 2002; 39, 4: 253-259.
- CHRISTIE, P. J.; ATMAKURI, K.; KRISHNAMOORTHY, V.; JAKUBOWSKI, S.; CASCALES, E. Biogenesis, Architecture and Function of Bacterial Type IV Secretion Systems. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 59, p. 451-485, 2005.
- CHRISTIE, P. J.; CASCALES, E. The versatile bacterial type IV secretion systems. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 1, p. 137-148, 2003.
- CORREA P, HAENSZEL W, CUELLO C, TANNENBAUM S, ARCHER M. A model for gastric cancer epidemiology. **Lancet** 1975; 12, 2: 58-60.
- CORREIA M, MACHADO JC, RISTIMÄKI A. Basic aspects of gastric cancer. **Helicobacter.** 2009; 14, 1: 36-40.

COVACCI, A.; RAPPUOLI, R. *Helicobacter pylori*: after the genomes, back to biology. **J. Exp. Med.**, v. 7, n. 197, p. 807-811, 2003.

COVACCI, A.; RAPPUOLI, R. Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins: Trojan horses for the host cell. **J. Exp. Med.**, v. 191, p. 587-592, 2000.

DE FRANCESCO, V.; MARGIOTTA, M.; ZULLO, A.; HASSAN, C.; GIORGIO, F.; ZOTTI, M.; STOPPINO, G.; BASTIANELLI, A.; DITERLIZZI, F.; VERDEROSA, G.; MORINI, S.; PANELLA, C.; IERARDI, E. *Helicobacter pylori vacA* Arrangement and Related Diseases: A retrospective Study Over a Period of 15 years. **Dig. Dis. Sci.**, v. 1, n. 54, p. 97-102, 2009.

DÍAZ M, I.; VALDIVIA, A.; MARTÍNEZ, P.; PALACIOS, J. L.; HARRIS, P.; NOVALES, J.; GARRIDO, E.; VALDERRAMA, D.; SHILLING, C.; KIRBERG, A.; HEBEL, E.; FIERRO, J.; BRAVO, R.; SIEGEL, F.; LEON, G.; KLAPP, G.; VENEGAS, A. *Helicobacter pylori vacA* s1a and s1b alleles from clinical isolates from different regions of Chile show a distinct geographic distribution. **World J. Gastroenterol.**, v. 11, n. 40, p. 6366-6372, 2005.

DIXON, M. F.; PATH, F.R.C.; GENTA, R. M.; YARDLEY, J. H.; CORREA, P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston; 1994. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 10, n. 20, p. 1161-1181, 1996.

DUNN B E, COHEN H, BLASER M J. *Helicobacter pylori*. **Clin Microbiol Reviews** 1997; 10: 720-741.

ESLICK RM Jr, THOMPSON, S. A.; DONAHUE, J. P.; THAM, K. T.; ATHERTON, J. C.; BLASER, M. J.; MILLER, G. G.. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a *Helicobacter pylori* gene, *iceA*, that is associated with clinical outcome. **Proc Assoc Am Physicians** 1998; 110: 531-544

ESPEJO, E.; NAVARRETE, S. J. Classification of stomach adenocarcinomas. **Rev. Gastroenterol.**: Peru 2003; 23, 3: 199-212.

FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, ESER S, MATHERS C, REBELO M, PARKIN DM, FORMAN D, BRAY F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **Int J Cancer**. 2015;1; 359-386.

FRANKE, A.; TEYSSEN, S.; SINGER, M. V. Alcohol-related diseases of the esophagus and stomach. **Dig. Dis** 2005; 23: 204-213.

G.D. Foster, D. Tweel, Plant gene isolation ed., Principles and practice of Clinical Bacteriology Second ed., England: **John Wiley & Sons**; 1996.

GLADE, M. J. Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research/ World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, 1997. **Nutrition**. V 1999; 15: 523-526.

GO, M.; KAPUR, V.; GRAHAM, D.; MUSSER, J. M.; Population genetic analysis of *Helicobacter pylori* by multilocus enzyme electrophoresis: extensive allelic diversity and recombinational population structure. **J Bacteriol** 1996.

GOLDSTEIN, N. S. Chronic Inactive Gastritis and Coccoid *Helicobacter pylori* in Patients Treated for Gastroesophageal Reflux Disease or With *H. pylori* Eradication Therapy. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 118, p. 719-726, 2002.

GOODWIN, C. S.; ARMSTRONG, J. A.; CHILVERS, T.; PETERS, M.; COLLINS, M. D.; SLY, L.; McCONNELL, W.; HARPER, W. 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.

HARTGRINK HH, JANSEN EPM, VAN GRIEKEN NCT, VAN DE VELDE CJH. Gastric cancer. **Lancet** 2009; 374: 477–90.

INCA, Instituto Nacional do Cancer. www.inca.com.br KHALIFA, M., SHARAF, R., AZIZ, R. *Helicobacter pylori*: a poor man's gut pathogen? **Gut. Pathogens** 2010; 2: 1-12.

KAGUE, E.; CRISTIANE, M.; PARDINI, M. I. C. M.; CARVALHO, F.; LEITE, C. V.; PINHEIRO, N. A. Methylation status of CDH1 gene in samples of gastric mucous from brazilian patients with chronic gastritis infected by *Helicobacter pylori*. **Arq. Gastroenterol.**, v. 1, n. 47, p. 7-12, 2010.

KRAUSE, S.; PANSEGRAU, W.; LURZ, R.; DE LA CRUZ, F.; LANKA, E. Enzymology of type IV macromolecule secretion systems: the conjugative transfer regions of plasmids RP4 and R388 and the *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori* encode structurally and functionally related nucleoside triphosphate hydrolases. **J. Bacteriol.**, v. 10, n.182, p. 2761-2770, 2000.

KUMAR, S.; KUMAR, A.; DIXIT, V. K. Genetic diversity in strains of *Helicobacter pylori* from India and their relatedness to strains from other parts of the world. **Infect. Genet. Evol.**, v. 1, n. 11, p. 242-247, 2011.

LADEIRA, M. S. P.; BUENO, R. C. A.; SANTOS, B. F.; PINTO, C. L. S.; PRADO R. P.; SILVEIRA, M. G.; RODRIGUES, M. A. M.; BARTCHEWSKY, W. JR.; PEDRAZZOLI, J. JR.; RIBEIRO, M. L.; SALVADORI, D. M. F. Relationship among Oxidative DNA Damage, Gastric Mucosal Density and the Relevance of *cagA*, *vacA* and *iceA* Genotypes of *Helicobacter pylori*. **Dig. Dis. Sci.**, v. 53, p. 248–255, 2008.

LAGE, A.P., GODFROID, E., FAUCONNIER, A., BURRETTE, BUTZLER, J.P., BOLLEN, A., GLUPCZYNSKI, Y. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens, **J Clin Microbiol.** 1995. 2752-6.

LAUWERS, G. Y.; SRIVASTAVA, A. Gastric Preneoplastic Lesions and Epithelial Dysplasia. **Gastroenterol. Clin. N. Am.**, v. 36, p. 813–829, 2007.

LIMA, V. P.; RABENHORST, S. H. Genes associados a virulência do *Helicobacter pylori*, **Rev. Bras. Cancerol.**, v. 4, n. 55, p. 389-396, 2009.

LIMA, V. P.; SILVA-FERNANDES, I. J. F.; SANTOS, K. K. S.; RABENHORST, S. H. B. Prevalence of *Helicobacter pylori* genotypes (*vacA*, *cagA*, *cagE* and *virB11*) in gastric cancer in Brazilian's patients: an association with histopathological parameters. **Cancer Epidemiol** 2011; 35: e32-e37.

LIMA, V.P.; LIMA, M. A. P.; FERREIRA, M. V. P.; BARROS, M. A. P.; RABENHORST, S. H. B.. The relationship between *Helicobacter pylori* genes *cagE* and *virB11* and gastric cancer. **Int J Infect Dis** 2010; 14: e613–e617.

LING, F.; WANG, X.; DAI, D.; YU, M.; CHEN, C.; QIAN, J.; LIU, C.; ZHANG, Y.; DING, J. GUAN, X. W.; SHAO, S. The *Helicobacter pylori* Protein CagM is Located in the Transmembrane Channel That is Required for CagA Translocation. **Curr Microbiol** 2013.

MAGALHÃES, A. F.; CORDEIRO, F.T.; QUILICI, F. A.; MACHADO, G.; AMARANTE, H. M. B. S.; PROLLA, J. C.; LEITÃO, O.R.; ALVES, O. R. A.; SAKAI, P. **Endoscopia digestiva: diagnóstica e terapêutica**. [S.l.]: SOBED, 2005.

MARSHALL B J, WARREN J R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **Lancet** 1984; 1: 1311-1315.

MARSHALL B. *Helicobacter pylori*: 20 years on. **Clin Med**. 2002; 2:147-52.

MATTAR, R.; MARQUES, S. B.; MONTEIRO, M. D. O. S.; DOS SANTOS, A. F.; IRIYA, K.; CARRILHO, F. J. *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island genes: clinical relevance for peptic ulcer disease development in Brazil. **J. Med. Microbiol.**, v. 56, p. 9-14, 2007.

MIZUSHIMA, T.; SUGIYAMA, T.; KOBAYYASHI, T.; KOMATSU, Y. ISHIZUKA, J. KATO, M.; ASAKA, M. Decreased Adherence of *cagG*-Deleted *Helicobacter pylori* to Gastric Epithelial Cells in Japanese Clinical Isolates. **Helicobacter** 2002; 7: 22-29

MÓDENA, J. L. P.; SALES, A. I. L.; OLSZANSKI, A. G.; RUSSO, R.; VILELA, M. A. R.; FUKUHARA, Y.; SILVEIRA, W. D.; MÓDENA, J. L.; OLIVEIRA, R. B.; BROCCHI, M. Association between *Helicobacter pylori* genotypes and gastric disorders in relation to the *cag* pathogenicity island. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 59, p. 7-16, 2007.

MÓDENA, J. L.; ACRANI, G. O.; MICAS, A. F.; CASTRO, M.; SILVEIRA, W. D.; MÓDENA, J. L.; OLIVEIRA, R. B.; BROCCHI, M. Correlation between *Helicobacter pylori* infection, gastric diseases and life habits among patients treated at a university hospital in Southeast Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 11, p. 89-95, 2007.

NAYLOR, G. M.; GOTODA, T.; DIXON, M.; SHIMODA, T.; GATTA, L.; OWEN, R.; TOMPKINS, D.; AXON, A. Why does Japan have a high incidence of gastric cancer? Comparison of gastritis between UK and Japanese patients. **Gut**, v. 55, p. 1545-1552, 2006.

NCBI – National Center of Biotechnology Information. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 25 novembro de 2017

NOGUEIRA, C.; FIGUEIREDO, C.; CARNEIRO, F.; GOMES, A. T.; BARREIRA, R.; FIGUEIRA, P.; SALGADO, C.; BELO, L.; PEIXOTO, A.; BRAVO, J. C.; BRAVO, L. E.; REALPE, J. L.; PLAISIER, A. P.; QUINT, W. G. V.; RUIZ, B.; CORREA, P.; VAN DOORN LJ. *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. **Am. J. Pathol.**, v. 158, n. 2, p. 647-643, 2001.

PACHECO, A. R.; PROENÇA-MÓDENA, J. L.; SALES, A. I. L.; FUKUHARA, Y.; SILVEIRA, W. D.; PIMENTA-MÓDENA, J. L.; OLIVEIRA, R. B.; BROCCHI, M. Involvement of the *Helicobacter pylori* plasticity region and *cag* pathogenicity island genes in the development of gastroduodenal diseases. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 27, p.1053–1059, 2008.

PASSARO, D. J.; CHOSY, E. J.; PARSONNET, J. *Helicobacter pylori*: Consensus and Controversy. **J. Clin. Infect. Dis.**, v. 35, p. 298–304, 2002.

PEEK, R. M. Jr.; CRABTREE, J. E.. *Helicobacter* infection and gastric neoplasia. **J Pathol** 2006; 208: 233–248

QIU JL, CHEN K, ZHENG JN, WANG JY, ZHANG LJ, SUI LM. Nutritional factors and gastric cancer in Zhoushan Islands, China. **World J Gastroenterol** 2005 28;11:4311-6.

QUIROGA, A. J.; CITTELLY, D. M.; BRAVO, M. M. BabA2, *oipA* and *cagE* *Helicobacter pylori* genotypes in Colombian patients with gastroduodenal diseases. **Biomedica**, v. 3, n. 25, p. 325-334, 2005.

RAMIS, I. B.; FONSECA, T. L.; MORAES, E. P.; FERNANDES, M. S.; MENDOZA-SASSI, R.; RODRIGUES, O.; JULIANO, C. R. V.; SCAINI, C. J.; SILVA, P. E. A. Molecular Basis of Pathogenicity in *Helicobacter pylori* Clinical Isolates. **J. Clin. Microbiol.**, v. 48, n. 10, p. 3776–3778, 2010

ROHDE, M.; PULS, J.; BUHRDORF, R.; FISCHER, W.; HAAS, R. A novel sheathed surface organelle of the *Helicobacter pylori* *cag* type IV secretion system. **Mol Microbiol** 2003; 49: 219-234.

ROMAM, A.; MARTINEZ, D. N.;MORALES, J. ; HEZQUIO, J. C. A. *Helicobacter pylori* *vacA* s1m1 genotype but not *cagA* or *babA2* increase the risk of ulcer and gastric cancer in patients from Southern Mexico **Gut Pathog** 2017. 9:18

ROTA, C. A.; PEREIRA-LIMA, J. C.; BLAYA, C.; NARDI, N. B. Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3' region of *cagA* gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. **J. Clin. Microbiol.**, v. 2, n. 39, p. 606-612, 2001.

RUDI, J.; KOLB, C.; MAIWALD, M.; KUCK, D.; SIEG, A.; GALLE, P. R.; STREMMEL, W. Diversity of *Helicobacter pylori* *vacA* and *cagA* genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. **J. Clin. Microbiol.**, v. 4, n. 36, p. 944-948, 1998.

SAITO, H.; YAMAOKA, Y. ISHIZONE, S.; MARUTA, F.; SUGIYAMA, A.; GRAHAM, Y.; YAMAUCHI, K.; OTA, H.; MIYAGAWA, S. Roles of virD4 and cagG genes in the cag pathogenicity island of *Helicobacter pylori* using a Mongolian gerbil model. **Gut** 2005; 54: 584–590.

SMOLKA, A. J.; BACKERT, S. How *Helicobacter pylori* infection controls gastric acid secretion. **J Gastroenterol** 2012; 47: 609–618.

STADTLANDER, C. T. K-H.; WATERBOR, J. W. Molecular Epidemiology, Pathogenesis and Prevention of Gastric Cancer. **Carcinogenesis** 1999; 20, 12: 2195-2207.

THOMAZINI, C. M.; PINHEIRO, N. A.; PARDINI, M. I.; NARESSE, L. E.; RODRIGUES, M. A. M. Infecção por *Helicobacter pylori* e câncer gástrico: Frequência de cepas patogênicas *cagA* e *vacA* em pacientes com câncer gástrico. **J. Bras. Patol. Med.**, v. 42, n. 1, p. 25-30, 2006.

Wroblewski LE, Peek RM Jr, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. **Clin Microbiol Rev** 2010; 23: 713-739

XU, C.; LI, Z. S.; TU, Z. X.; XU, G. M.; GONG, Y. F.; MAN, X. H. Distribution of *cagG* gene in *Helicobacter pylori* isolates from Chinese patients with different gastroduodenal diseases and its clinical and pathological significance. **World J Gastroenterol** 2003; 9: 2258-2260

YAMAZAKI, S.; YAMAKAWA, A.; OKUDA, T.; OHTANI, M.; SUTO, H.; ITO, Y.; YAMAZAKI, Y.; KEIDA, Y.; HIGASHI, H.; HATAKEYAMA, M.; AZUMA, T. Distinct Diversity of *vacA*, *cagA*, and *cagE* Genes of *Helicobacter pylori*, Associated with Peptic Ulcer in Japan. **J. Clin. Microbiol.**, p. 3906–3916, 2005.

YOU, W.C.; ZHANG, L.; GAIL, M.H.; CHANG, Y.S.; LIU, W.D.; MA, J.L.; LI, J.Y.; JIN, M.L.; HU, Y.R.; YANG, C.S.; BLASER, M.J.; CORREA, P.; BLOT, W.J.; FRAUMENI, J.F. JR.; XU, G.W. Gastric dysplasia and gastric cancer: *Helicobacter pylori*, serum vitamin C, and other risk factors. **J Natl Cancer Inst** 2000; 92: 1607-1612.

ZAWILAK, A.; ZAKRZEWSKA-CZERWIŃSKA, J. Organization of the *Helicobacter pylori* genome. **Postepy Hig. Med. Dosw.**, v. 55, p. 355-367, 2001.

APENDICES**Apêndice A: Parecer do Comitê de Ética**

Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. Nº 220/12

Fortaleza, 05 de julho de 2012.

Protocolo COMEPE nº 326/11

Pesquisador responsável: Silvia Helena Barem Rabenhorst.

Título do Projeto: "Estudo de suscetibilidade genética, caracterização de fatores etiológicos e identificação de marcadores com aplicabilidade para prevenção e prognóstico".

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 e complementares, aprovou o protocolo e o TCLE do projeto supracitado na reunião do dia 04 de julho de 2012.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório parcial e final do referido projeto.

Atenciosamente,


Dr. Antônio A. F. Costa
Coordenador do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/UFC

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/HGF

Fortaleza, 24 de abril de 2013.

Ilma. Sra. comunicamos-lhe o parecer do CEP

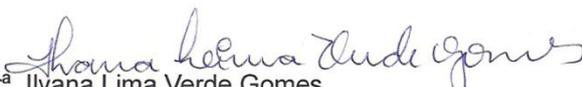
Pesquisadora: **Sílvia Helena Barem Rabenhorst**
Projeto Intitulado: **Polimorfismo de interleucinas e enzimas do sistema de reparo ao estresse oxidativo no câncer gástrico: associado com helicobacter pylori**
Protocolo do CEP: **071002/10**

Parecer:

O CEP-HGF aprovou a Emenda do projeto acima citado pois o mesmo já havia sido aprovado neste CEP em 07/10/10, porém o pesquisador não conseguiu amostra suficiente e com isto solicitou uma extensão do prazo para coleta de dados feito apenas um Ad-referendum.

Lembramos ao pesquisador o cumprimento da referida Resolução na condução científica do seu projeto e ainda, o encaminhamento ao CEP do relatório final da pesquisa bem como à devolução dos resultados à comunidade

Atenciosamente,


Dr^a. Ilvana Lima Verde Gomes
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/HGF

Apêndice B: Termo de consentimento livre e esclarecimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Instituição: DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL – UFC
LABORATÓRIO DE GENÉTICA MOLECULAR – LABGEM

Endereço: R. Coronel Nunes de Melo, 1127, Porangabuçu

Investigadora Responsável: Silvia Helena Barem Rabenhorst

Título: “Identificação genotípica e prevalência de cepas da *Helicobacter pylori* responsáveis pelo desenvolvimento dos adenocarcinomas gástricos: Estudos em lesões precursoras”

Eu, _____ por este meio, fui informado (a), em detalhes sobre o estudo intitulado: “ Identificação genotípica e prevalência de cepas da *Helicobacter pylori* responsáveis pelo desenvolvimento dos adenocarcinomas gástricos: Estudos em lesões precursoras”. O estudo está sendo realizado pelo Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará. O estudo em questão pretende associar fatores genéticos e ambientais, que estão relacionados às doenças, de modo a identificar os fatores de risco, tais como a presença de uma bactéria denominada *Helicobacter pylori*. Para identificar esta bactéria, serão feitos estudos no laboratório, analisando o material coletado no momento da endoscopia. Cerca de 200 pacientes serão incluídos no presente estudo. Portanto, concordando em participar serei um dos pacientes deste estudo que envolve diversas instituições, permitindo coleta de material necessário para o estudo, bem como o uso de todo material gerando a partir desta coleta, como lâminas, blocos e etc. . Não haverá mudança ou perdas em relação à análise pelo patologista do meu material. Paralelamente, serão anotadas algumas questões referentes à minha pessoa, no que diz respeito a dados pessoais como a data de nascimento e hábitos de vida, como alimentação, ao consumo de bebida alcoólica e/ou cigarros e também em relação à minha doença, no que se refere aos sintomas e quando começou. Estas informações serão retiradas do meu prontuário ou na ausência delas, serão perguntadas pessoalmente a mim. Minha participação não terá benefício direto imediato, em princípio, mas poderá estar contribuindo para que se entendam melhor os fatores de risco e alterações que ocorrem nas doenças gástricas. A identificação dos fatores de risco para doenças gástricas servirá para direcionar medidas preventivas. Todos os dados da minha participação neste estudo serão documentados e mantidos confidencialmente, sendo disponíveis apenas para as autoridades de saúde e profissionais envolvidos neste estudo, os quais, quando necessário, terão acesso ao meu prontuário. Como minha participação é voluntária, posso abandonar o estudo a qualquer momento, sem que isso resulte em qualquer penalidade ou perda de meus direitos onde recebo atendimento médico. Se tiver qualquer dúvida ou perguntas relativas a esse estudo ou aos meus direitos no que diz respeito à minha participação, posso contatar a Dra. Silvia Helena Rabenhorst no telefone 3288 8206 ou 9994 5689.

Assinatura do paciente: _____

Endereço do paciente: _____

Telefone: _____ Data: ____ / ____ / ____

Nome da testemunha _____

Assinatura da testemunha: _____

Assinatura do investigador: _____

Você está sendo convidado pela Profa. Dra. Silvia Helena Barem Rabenhorst a participar como voluntário de uma pesquisa. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todas as etapas desta pesquisa sejam devidamente esclarecidas.

A pesquisa intitulada ***Estudo de suscetibilidade genética, caracterização de fatores etiológicos e identificação de marcadores com aplicabilidade para e prevenção e prognóstico*** está sendo realizada pelo Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará. O estudo em questão pretende analisar características genéticas do paciente e alguns hábitos que podem levar ao desenvolvimento do câncer gástrico, nos ajudando a identificar os fatores de risco, tais como a presença de uma bactéria chamada *H.pylori* e de um vírus chamado EBV. Estes microorganismos serão identificados por meio da presença do material genético destes agentes infectantes no tumor. Serão também observadas as alterações genéticas das células tumorais. Essas alterações serão vistas pela expressão de proteínas ou pela análise do DNA/RNA do tumor.

Participarão deste estudo 200 pacientes atendidos no Hospital Universitário Walter Cantídeo. Portanto, concordando em participar, você será um dos pacientes participantes que permitem a coleta do material tumoral do estômago além de uma amostra de sangue necessários para o estudo. Esta coleta não irá afetar o diagnóstico da sua doença ou o tratamento. Paralelamente, serão anotadas algumas questões referentes a seus dados pessoais, como data de nascimento, hábitos de vida e em relação à sua doença. Estas informações serão retiradas do seu prontuário ou na ausência delas, serão perguntadas pessoalmente a você.

Sua participação não terá benefício direto imediato, em princípio, mas que poderá contribuir para que se entenda melhor os fatores de risco e alterações que propiciem o aparecimento do câncer gástrico. A identificação dos fatores de risco para o câncer gástrico servirá para direcionar medidas preventivas. Por outro lado, as alterações genéticas encontradas no material coletado auxiliarão no diagnóstico, na avaliação da gravidade da doença e também podem dar informações para novos tratamentos que estão sendo desenvolvidos.

Todos os dados da sua participação neste estudo serão documentados e mantidos em sigilo, sendo disponíveis apenas para as autoridades de saúde e profissionais envolvidos neste estudo, os quais, quando necessário, terão acesso ao seu prontuário.

Como sua participação é voluntária, você poderá abandonar o estudo a qualquer momento, sem que isso resulte em qualquer penalidade ou perda de seus direitos onde você recebe atendimento médico.

Endereço da responsável pela pesquisa:

Nome: Dra. Silvia Helena Barem Rabenhorst

Instituição: Universidade federal do Ceará

Endereço: Rua: Marcos Macedo, 1301, Apto 802.

Telefone: 3366-8639/9994-5689

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a sua participação na pesquisa entre em contato com o Comitê de ética em pesquisa da UFC - Rua Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo 3366-8344.

Eu, _____, _____ anos, RG: _____, declaro que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário da pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que após sua leitura tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. Declaro ainda estar recendo uma cópia assinado deste termo.

Fortaleza, ___ / ___ / ___

Nome do Voluntário _____ Data ___ / ___ / ___

Assinatura _____

Nome do Pesquisador _____ Data ___ / ___ / ___

Assinatura _____

Nome da testemunha _____ Data ___ / ___ / ___ Assinatura _____

(se o voluntário não souber ler)

Nome do profissional que aplicou o TCLE _____ Data ___ / ___ / ___

Assinatura _____

Apêndice C – Cadastro de Pacientes Submetidos à Coleta de Tecido de Peça Cirúrgica



CADASTRO DE PACIENTES SUBMETIDOS À ENDOSCOPIA

Data ___/___/___ N° Prontuário _____ código: _____
Local da coleta _____ Amb: _____

I – IDENTIFICAÇÃO

Nome _____ Sexo F [] M []
Endereço _____ Tel _____
naturalidade _____ Procedência _____ Ascendência _____
Cor: [] caucasiano [] negro [] asiático [] mestiço [] mulato: _____
Idade ___ Nasc ___/___/___ ABO ___ Profissão _____ Grau de instrução _____

II-HISTÓRIA FAMILIAR:

Familiares com história de gastrite _____
Familiares com história de câncer gástrico _____

Hábitos: [] Sal [] Frutas [] Verduras [] Churrasco ou Carne seca [] geladeira
[] Tabagista Tipo _____ Freqüência _____ Fum. passivo []
[] Álcool Tipo _____ Freqüência _____

III- DOENÇA ASSOCIADA:

IV- USO DE MEDICAMENTOS: _____

V- ENDOSCOPIA ANTERIOR: [] Sim [] Não *H. pylori* [] Técnica _____

Diagnóstico: _____

Tratamento: _____

Biópsia : N° _____ data ___/___/___ Laudo _____

VI-DADOS RELATIVOS À LESÃO ATUAL. Teste de urease []

Motivo da endoscopia (sintomas) _____

VI-LAUDO ENDOSCÓPICO- Médico _____

Esôfago: _____

Estômago: _____ Tipo de lesão _____ Sítio anatômico _____

Duodeno: _____

Conclusão _____

VII- COLETA: Região do corpo [] N° de fragmentos [] Região do antro [] N° de fragmentos []

Tempo de ressecção da coleta: [] <1h [] 1h [] 2h [] 3h [] < ou =4h []

Local Armazenamento: _____ Biópsia [] _____

Responsável pela Coleta: _____

