

## ***Helicobacter Pylori*: MARCADORES DE PATOGENICIDADE cagA e vacA E DIAGNÓSTICO**

### ***Helicobacter Pylori*: PATHOGENIC MARKERS cagA and vacA AND DIAGNOSIS**

<sup>1</sup>THEODORO, Stéfani de Campos, <sup>1</sup>COSTA, Natasha Louzada, <sup>2</sup>GATTI, Luciano Lobo

<sup>1</sup>Graduando em Ciências Biológicas - Faculdades Integradas de Ourinhos – FIO/FEMM

<sup>2</sup>Doutor em Ciências - Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP- Professor Doutor das Faculdades Integradas de Ourinhos (FIO)

#### **RESUMO**

O trabalho objetivou-se em realizar uma revisão bibliográfica sobre os principais marcadores de patogenicidade da bactéria *Helicobacter pylori* nas alterações gastrointestinais visando a entender o papel dos chamados “fatores de virulência”, assim como estudar a associação do *H. pylori* com doenças gastrointestinais. Foram selecionados os trabalhos publicados em revistas indexadas nas bases de dados MedLine e PubMed, sob os unitermos “*H. pylori*”, “marcadores de patogenicidade”, “diagnóstico”. Considerações finais: Fica clara a importância epidemiológica da infecção por sua evidente associação com doenças gastricas e o importante papel desempenhado pelos fatores de virulência codificados pela bactéria, uma vez que a infecção pelo microorganismo se caracteriza pela cronicidade, o conhecimento de sua patogênese e a correlação com seus fatores de risco tende a ser um importante mecanismo de prevenção.

**Palavras-chave:** *Helicobacter pylori*. Marcadores de Patogenicidade. Diagnóstico.

#### **ABSTRACT**

The work aimed to to perform a literature review on the main bacterial pathogenicity markers *Helicobacter pylori* in the gastrointestinal amendments to understand the role of so-called "virulence factors", and to study the association of *H. pylori* with gastrointestinal diseases. published works were selected in journals indexed in MEDLINE and PubMed databases, under the terms "*H. pylori* ", " pathogenicity markers ", " diagnosis ". Conclusions: clear It is the epidemiological importance of infection by their apparent association with gastric diseases and the important role of virulence factors encoded by the bacteria, since infection by the microorganism is characterized by chronic, knowledge of its pathogenesis and the correlation with their risk factors tends to be an important mechanism for prevention.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*. Pathogenicity Markers. Diagnosis

#### **INTRODUÇÃO**

O *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa que infecta a mucosa do estômago provocando lesões geralmente localizadas de gravidade variável, tais como gastrite, úlceras pépticas e câncer de estômago. É uma bactéria que tem como uma de suas características a capacidade de interagir com a célula do hospedeiro de forma de garantir sua permanência por longo tempo. Apesar do *H. pylori* ser causa de amplo espectro de doenças, a maioria dos humanos infectados por ela não apresentam qualquer tipo de sintoma. (SIQUEIRA et al., 2007).

Trata-se de uma infecção geralmente adquirida na infância e pode persistir por toda a vida. A gastrite é uma consequência presente em quase todos os indivíduos infectados pelo *H. pylori* e apesar de muitos hospedeiros permanecerem assintomáticos, outros apresentam úlcera péptica ou duodenal, adenocarcinoma gástrico e linfomas, principalmente o linfoma MALT (Linfoma do tecido linfóide associado à mucosa). (BLASER, et al. 2008).

A infecção tem uma distribuição cosmopolita e sua prevalência é uma questão de saúde pública na população mundial, especialmente em países sob desenvolvimento e em pessoas de baixa classe socioeconômica, onde se estima que a incidência de colonização é de 70% a 90% da população, dos quais a maior parte dos indivíduos adquire a infecção ainda na infância. (SANTOS, et al. 2010).

Estudos apontam que fatores ambientais, da bactéria e do hospedeiro contribuem no aparecimento de patologias como úlceras e gastrites (AGUIAR D.C et al, 2002), porém, dentre os citados, os mais estudados são os relacionados à bactéria. Os fatores patogênicos relacionados ao hospedeiro ainda não estão totalmente elucidados (MINCIS, M, 1999). A forma espiralada e os flagelos refletem na predileção pelo muco gástrico, além de possibilitar melhor locomoção pelo muco de uma forma impossível para outros tipos de bactérias que possuem flagelos normais e ficam aprisionadas no muco, porque são incapazes de se mover para adiante, além da resposta inflamatória, uma resposta imune ocorre em decorrência das lesões no tecido invadido pelo *H. pylori*. (LADEIRA, M. S. P, et al, 2003).

Visto a importância da presença da bactéria e suas proteínas de virulência na mucosa gástrica como gênese de doenças gástricas o presente trabalho objetivou-se em realizar um levantamento bibliográfico demonstrando os importantes fatores de virulência bacteriano.

## **METODOLOGIA**

Para elaboração da pesquisa foi realizado uma revisão sistemática, a partir de base de dados como: Pubmed (U.S National Library of Medicine), MedLine (Literatura Internacional em Ciências da Saúde), SCIELO (Scientific Electronic Library Online). Durante a busca de dados, foram utilizados como os descritores: *Helicobacter pylori*, doenças gástricas, marcadores de patogenicidade. Para seleção dos artigos não foram utilizados filtros de data.

## DESENVOLVIMENTO

### Transmissão

O exato mecanismo da transmissão e aquisição do *H.pylori* ainda é desconhecido, no entanto acredita-se que o ser humano é praticamente o único reservatório natural do *H. pylori*. (BROWN LM, 2000) Estudos sugerem que o contato com a bactéria ocorre predominantemente durante a infância. (KUSTERS JG, et al, 2006). A superior taxa de prevalência de *H. pylori* nos países em desenvolvimento suporta a teoria de que as condições de higiene e o meio ambiente envolvente influenciam a transmissão de *H. pylori*. (R.H. HUNT C, et al. 2010).

### Patogenia Bacteriana

O risco de desenvolver patologia gástrica, na presença da bactéria, depende da interação de uma variedade de fatores, sendo estes, os da bactéria, do hospedeiro e do meio ambiente. Estes fatores determinam a capacidade da bactéria colonizar a mucosa gástrica, persistir no estômago, desencadear uma resposta inflamatória e também de produzir substâncias tóxicas para a mucosa gástrica. (KUSTERS JG, et al, 2006).

A bactéria necessita de atravessar a camada de muco que protege o epitélio gástrico. Proteases e fosfolipases sintetizadas pela bactéria degradam a camada de muco, facilitando a disseminação bacteriana. (SUERBAUM S, 2002) A adesão à mucosa gástrica é feita através de adesinas com a ligação da proteína BabA (blood group antigen adhesion) a antígenos de grupos sanguíneos, destacando-se o Lewis b, que funciona como receptor. (AMIEVA MR, EL-OMAR EM, 2008) Alguns fatores de virulência, como a proteína CagA, são codificados por uma região importante do genoma do *H. pylori* chamado de ilha de patogenicidade (cag-PAI). (SUZUKI R et al, 2012) A sua presença está associada ao aumento da secreção de IL-8, a qual é importante para a quimiotaxia e ativação de neutrófilos. (GODOY AP et al. 2007)

### Proteína CagA

A maioria dos indivíduos colonizados pelo *H. pylori* não desenvolvem complicações desta infecção. Esta característica levou à consideração a

possibilidade de que algumas cepas fossem mais virulentas que outras, provocando a investigação da patogenia de diferentes cepas da *H. pylori*. Esta capacidade foi relacionada à presença de uma proteína com aproximadamente 140 kDa de massa, nomeada CagA (de gene associado a citotoxina), altamente imunogênica e codificada pelo gene *cagA* presente em mais da metade das cepas de *H. pylori*. Cepas que possuem a *cag* PAI são chamadas de linhagens *cagA*-positivas e induzem alta titulação de anticorpos anti-proteína CagA. Pacientes infectados por esta cepa desencadeiam uma maior resposta inflamatória, com maior risco de desenvolver um quadro sintomático, seja úlcera, gastrite atrófica ou câncer gástrico. Deve-se salientar que cepas que não possuem *cag* PAI são também encontradas em pacientes com úlcera péptica ou câncer gástrico, porém em menor frequência. (LIN, W. C. et al, 2010).

### **Proteína vacA**

A proteína VacA, ou “citotoxina vacuolizadora”, é um fator de virulência com papel crucial na patogênese. Tem três atividades celulares confirmadas: vacuolização celular, apoptose e ativação dos linfócitos T CD4 positivos e proliferação. Esta toxina foi descoberta como uma proteína secretada pelo *H. pylori* que induz uma enorme vacuolização citoplasmática in vitro

As lesões nas células epiteliais gástricas são causadas pela proteína VacA, codificada pelo gene *vacA*, que induz a vacuolização da célula hospedeira. Variações específicas do alelo *vacA* apresentam diferentes níveis de atividade da toxina e estão associadas a diferentes riscos de doenças gastrointestinais. Existem dois tipos de regiões sinalizadoras (s1 e s2) e de regiões médias (m1 e m2) que possuem diferentes atividades vacuolizadoras. Cepas do genótipo *vacA* s2 codificam um encurtamento do peptídeo N-terminal da proteína madura, bloqueando a atividade vacuolizadora, enquanto cepas de genótipo *vacA* s1 têm sido associadas à inflamação gástrica grave e úlcera duodenal com atividade citotóxica reforçada. Geralmente os genótipos *vacA* s1 e m1 produzem uma grande quantidade de toxina e induzem maior atividade vacuolizadora no epitélio gástrico, enquanto os genótipos s2 e m2 produzem pouca ou nenhuma toxina. As cepas *vacA* s2-m2 são raramente associadas com o desenvolvimento da úlcera péptica e câncer gástrico (SUGIMOTO; YAMAOKA, 2009).

## Diagnóstico

Para o diagnóstico de infecção por *H. pylori* o clínico pode apoiar-se numa série de sintomas relacionados com algumas patologias gástricas e que são a favor da infecção, que posteriormente deve ser corroborado com exames laboratoriais específicos.

### *Teste rápido da urease:*

Este teste baseia-se na presença da enzima urease, produzida pelo *H. pylori*, que na presença de ureia a transforma em amoníaco. Coloca-se fragmentos de biópsia da mucosa gástrica na tira do CLO test, que contém ureia e um indicador de pH. A urease cliva a ureia liberando amoníaco, que é alcalino e altera a cor do indicador. É um método pouco dispendioso e de fácil utilização cuja sensibilidade é de 80 a 95% e especificidade entre 95 a 100 %. (14)

### *Cultura Microbiológica:*

O isolamento do *H. pylori* nem sempre é bem sucedido, pois esta é uma bactéria exigente e necessita de meios de cultura complexos. Não existe um meio de cultura ótimo para o crescimento da bactéria, mas necessita de meios enriquecidos com sangue ou plasma, o meio basal pode ser constituído por agar de Columbia, agar de carvão, agar com infusão de cérebro e coração (BHIA). Atualmente, existem no mercado preparações para a cultura da bactéria, caldo de infusão de coração e cérebro (BHIB), caldo de Mueller-Hinton (MHB) e caldo de Brucella (BB). Sendo o *H. pylori* uma bactéria microaerofílica, exige baixas concentrações de oxigénio e de CO<sub>2</sub> (5% de oxigénio e 10% de dióxido de carbono), com uma temperatura ótima de 37°C e pH neutro, apesar do seu crescimento no ácido do estômago. A bactéria cresce muito lentamente e necessita de 3 a 4 dias de crescimento. Surge então no meio de cultura, as bactérias espiraladas, sob a forma de pequenas colónias (cerca de 1 mm) e translúcidas. (KUSTERS JG, et al, 2006). Esta técnica para além do diagnóstico permite determinar a sensibilidade do *H. pylori* aos antibióticos, no caso de resistência terapêutica. Atualmente, tem uso limitado devido ao alto custo e longo tempo de crescimento na solução. Apresenta uma sensibilidade de entre 80 - 93% e especificidade entre 95 - 100% (STEVENSON TH, et al. 200).

### *Exame histológico*

As amostras obtidas através de biópsia histológica são fixadas em formol e coradas pela Hematoxilina e Eosina ou pelos corantes de Gimenez, Giemsa ou Warthin-Starry. É um método sensível, 80 a 90% e apresenta uma especificidade superior a 95%. Apesar de ser de custo elevado apresenta vantagens uma vez que permite acrescentar informações histopatológicas, possibilitando avaliar a presença de alterações pré-malignas (GISBERT JP).

#### *PCR (Reação de amplificação de polimerase)*

Técnica realizada a partir de amostras de biópsias gástricas. A sua grande vantagem reside no facto de permitir obter a sequencialização do DNA da bactéria, permitindo verificar mutações e identificar diferentes cepas bacteriana. Atualmente, a sua utilização é mais indicada para investigação científica. É um método de alto custo e que apresenta elevada sensibilidade e especificidade.(GATTI LL, et al, 2005).

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Fica clara a importância epidemiológica da infecção por sua evidente associação com doenças gástricas e o importante papel desempenhado pelos fatores de virulência codificados pela bactéria, uma vez que a infecção pelo microrganismo se caracteriza pela cronicidade, o conhecimento de sua patogênese e a correlação com seus fatores de risco tende a ser um importante mecanismo de prevenção.

### **REFERÊNCIAS**

AGUIAR, D. C. F. et al. Expressão dos antígenos ABH e Lewis na gastrite crônica e alterações pré-neoplásica da mucosa gástrica. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 39, n. 4, 2002.

AMIEVA MR, EL-OMAR EM. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology**, v. 134, n. 1, p. 306-323, 2008.

BLASER M.J; CHEN Y; REIBMAN J. Does *Helicobacter pylori* protect against asthma and allergy? **Gut.**, v.57; p. 561-567, 2008.

BROWN LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. **Epidemiol Rev.**, v. 22, n. 2, p. 283-97; 2000.

GATTI LL; SOUZA EKF; LEITE KR; BASTOS ELS; VICENTINI LR; SILVA LC; SMITH MAC; PAYÃO SLM. *cagA* vacA alleles and *babA2* genotypes

of *Helicobacter pylori* associated with gastric disease in Brazilian adult patients. **Diag. Microbiol Infec Dis.**, v. 51, p. 231-235, 2005.

GISBERT JP. A critical review of the diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterol y Hepatol.**, v. 23, n. 3, p. 135-43, 2000.

GODOY AP; MIRANDA MC; PAULINO LC; MENDONCA S; RIBEIRO ML; PEDRAZZOLI JR J. Analysis of molecular fingerprint and virulence factors of *Helicobacter pylori* strains. **Arq de Gastroenterol.**, v. 44, n. 2, p. 107-12, 2007.

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

LADEIRA, M. S. P.; SALVADORI, D. M. F.; RODRIGUES, M. A. M. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 39, n. 4, 2003.

LIN, W. C. et al. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into Human B Lymphocytes, the Origin of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma. **Cancer Res.**, v 70, 4, p. 5740-5748, 2010.

MINCIS, M. *Helicobacter pylori*: avanços e problemas. **Rev. Bras. Med**, São Paulo, v. 56, n. 6, 1999.

R.H. HUNT C; XIAO SD; MEGRAUD F; LEON-BARUA R; BAZZOLI F; MERWE SVD; et al. *Helicobacter pylori* in developing countries. **World Gastroenterology Organisation Global Guidelines**. August 2010.

SANTOS H, HORÁCIO G, DIAMANTINO S, JOSÉ E, ANA PRURITO G, CARVALHO AP, et al. *Helicobacter pylori* numa população dispéptica no Algarve: prevalência e caracterização genética. **J Port Gastreenterol.**, v. 17, v. 102-107, 2010.

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

STEVENSON TH; CASTILLO A; LUCIA LM; ACUFF GR. Growth of *Helicobacter pylori* in various liquid and plating media. **Lett Appl Microbiol.**, v. 30, n. 3, p. 192-196, 2000.

SUERBAUM S; MICHETTI P. *Helicobacter pylori* infection. **N Engl J Med**. V. 347, n. 15, p. 1175-1186, 2002.

SUGIMOTO, M.; YAMAOKA, Y.; FURUTA, T. Influence of interleukin polymorphisms on development of gastric cancer and peptic ulcer. **World J. Gastroenterol.**, v. 16, n. 10, p. 1188-1200, 2010.

SUZUKI R; SHIOTA S; YAMAOKA Y. Molecular epidemiology, population genetics, and pathogenic role of *Helicobacter pylori*. **Infect Genet Evol.**, v. 12, n. 2, p. 203-213, 2012.