



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Jacqueline Batista Sousa

Alterações histopatológicas na mucosa gástrica e nível sérico de gastrina em pacientes
chagásicos com e sem infecção pelo *Helicobacter pylori*

Uberaba
2015

Jacqueline Batista Sousa

Alterações histopatológicas na mucosa gástrica e nível sérico de gastrina em pacientes chagásicos com e sem infecção pelo *Helicobacter pylori*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, área de concentração II: Parasitologia, Imunologia e Microbiologia, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Gonçalves de Oliveira

Uberaba
2015

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

S697a Sousa, Jacqueline Batista
Alterações histopatológicas na mucosa gástrica e nível sérico de gastrina
em pacientes chagásicos com e sem infecção pelo *Helicobacter pylori* /
Jacqueline Batista Sousa. -- 2017.
53 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) -- Universidade
Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2017
Orientadora: Profa. Dra. Adriana Gonçalves de Oliveira

1. Doença de chagas. 2. *Helicobacter pylori*. 3. Gastrinas. 4. Coinfecção.
I. Oliveira, Adriana Gonçalves de. II. Universidade Federal do Triângulo
Mineiro. III. Título.

CDU 616.937

*Dedico essa dissertação aos meus pais
José Antônio e Eleuza que são essenciais em
minha vida. Obrigada pelo apoio incondicional,
confiança e incentivo. Com todo carinho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela saúde, força e coragem para concretizar meus planos, e aos caminhos que me foram concedidos conhecer generosamente.

À Profa. Dra. Adriana Gonçalves de Oliveira pela oportunidade da orientação e de desenvolver este trabalho. Agradeço a confiança e a forma com a qual me recebeu em seu laboratório.

À Dr^a. Renata Margarida Etchebehere, Dr^a Iracema Saldanha Junqueira, Dr. Daurin Narciso da Fonseca, Dr^a Sílvia Maria Perrone Camilo e Dr. Rodrigo Cunha de Sousa, pela imensa colaboração neste estudo, realizando os exames histopatológicos dos fragmentos de mucosa gástrica, endoscopia digestiva alta nos pacientes incluídos e acompanhamento destes pacientes. Agradeço ainda pela convivência e aprendizado no dia-a-dia.

Ao biomédico Anderson de Oliveira Vieira pelos ensinamentos, pela disponibilidade em ajudar em todos os momentos, competência e dedicação.

Aos pacientes que gentilmente aceitaram participar deste trabalho e sem os quais, a realização do mesmo não seria possível.

À Sônia Caiado pelo carinho incondicional, conselhos, conversas, risadas e palavras de sabedoria.

À Fernanda Machado Fonseca pela amizade verdadeira, pelo incentivo e por sempre me acalmar e incentivar com suas palavras de carinho.

À Laura Ribeiro Dias pela amizade, incentivo, conselhos e risadas.

Agradeço aos colegas da pós-graduação, Larissa Beatriz Silva, Beatriz Virgínia da Silva e Diego Batista Carneiro de Oliveira, pelo companheirismo, convivência diária e exemplo de trabalho em equipe e aos alunos da graduação e da Iniciação Científica em especial à Bianca Bontempi.

Às enfermeiras e funcionários do Serviço de Endoscopia do Ambulatório Maria da Glória pela contribuição durante as coletas e em especial à Cristina, Stephania e Mônica pela amizade.

A todos os professores dessa Pós-Graduação que, de alguma forma, contribuíram para meu aprendizado.

Ao Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva, por todos os esforços para a manutenção dessa Pós- graduação, por sua competência profissional e entusiasmo pela pesquisa científica.

À bibliotecária e também secretária da Pós- graduação, Elisabete Perez Caramori Ambrosio, pela disposição em ajudar em todos os momentos, com sua alegria contagiante.

A CAPES-REUNI pelos incentivos à pesquisa. À FAPEMIG pelos recursos disponibilizados para a realização desse projeto.

A todos aqueles que de uma forma ou de outra colaboraram durante a realização desta dissertação e que não foram citados anteriormente.

“Mestre não é quem ensina, mas quem, de repente, aprende”

Guimarães Rosa

RESUMO

Em pacientes com a forma digestiva da doença de Chaga, danos no tecido nervoso do estômago podem ser responsáveis por mudanças na secreção de ácido e hormônios, podendo levar à hipergastrinemia. Do mesmo modo, infecção pelo *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) pode induzir à hipergastrinemia. O objetivo deste estudo foi avaliar se a hipergastrinemia ocorre em pacientes que apresentam outras formas clínicas da doença de Chagas coinfectados ou não pelo *H. pylori*. Além disso, também foi avaliado se alterações endoscópicas e histopatológicas gástricas observadas em pacientes controles e chagásicos com a forma digestiva da doença estaria associada ao nível sérico de gastrina. Foram obtidos por biópsia fragmentos de mucosa gástrica de pacientes chagásicos e não-chagásicos para análise histopatológica e extração de DNA para pesquisa dos fatores de virulência. Uma amostra de sangue foi obtida para realização da sorologia para *T. cruzi* e *H. pylori* e dosagem de gastrina. A infecção pelo *H. pylori* foi detectada pela histologia, *polymerase chain reaction* (PCR), sorologia e teste respiratório. Foram estudados 45 (49,5%) pacientes chagásicos (forma digestiva, n=12; forma cardíaca, n=11; forma indeterminada, n=12 e forma cardiodigestiva, n=10) e 46 (50,5%) não-chagásicos sem dispepsia, enquanto que em outro grupo foram avaliados nove (28,1%) pacientes chagásicos com a forma digestiva da doença e 23 (71,9%) não-chagásicos com dispepsia submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA) no Serviço de Endoscopia da UFTM. A prevalência de infecção por *H. pylori* foi similar entre chagásicos com a forma digestiva da doença (88,9%) e não-chagásicos (60,9%) e a média de gastrina sérica (110 pg/mL *versus* 48 pg/mL) ($p = 0.003$). Enquanto que no grupo de pacientes que não foram submetidos à EDA, a prevalência de infecção pelo *H. pylori* também foi similar entre chagásicos (77,8%) e não-chagásicos (60,9%) e a média de gastrina sérica (103 pg/mL *versus* 39 pg/mL) ($p = 0.002$). Pacientes com a forma digestiva da doença tem um aumento do nível de gastrina basal. A gastrite crônica foi representada em 88,9% dos chagásicos com a forma digestiva da doença e em 87% dos pacientes não chagásicos ($p > 0.05$). Dois (8,7%) pacientes não chagásicos foram diagnosticados com ulcera gástrica e nenhum paciente apresentava úlcera duodenal ($p > 0.05$). Pacientes chagásicos com a forma digestiva da doença infectados por amostras de *H. pylori* *CagA*-positivas foi encontrada uma dosagem sérica de gastrina maior do que aqueles pacientes infectados por amostras de *H. pylori* *CagA*-negativas (135 ± 77 pg / mL e 79 ± 62 pg / mL, respectivamente; $p = 0,28$), enquanto que entre os pacientes não chagásicos foi de (54 ± 40 pg / mL e 45 ± 35 pg / ml, respectivamente; $p = 0,59$), porém as diferença não foram significativas. Os resultados do presente estudo não suportam um papel direto da infecção

pelo *H. pylori* no aumento da secreção de gastrina entre pacientes chagásicos. Adicionalmente, não foi observado associação entre concentrações de gastrina e características histológicas nos pacientes estudados. Para confirmar a associação entre hipergastrinemia e a proteína *CagA* produzida por algumas cepas de *H. pylori*, um maior número de pacientes é necessário para comparar o possível papel de cepas *CagA*-positivas.

Palavras-chave: *H. pylori*. Coinfecção. Doença de Chagas. Gastrina.

ABSTRACT

Chagasic patients with digestive form have abnormally high gastrin release and low gastric acid secretion. Likewise, *H. pylori* infection can also induce hypergastrinemia. Thus, we aimed to evaluate whether hypergastrinemia occurs in patients with the other clinical forms of Chagas disease, co-infected or not by *H. pylori*. Moreover, serum gastrin levels were associated with *CagA*-positive *H. pylori* strains and with gastric histological and endoscopic features. The patients evaluated were divided into two groups, one group comprising chagasic (with digestive form) and non-chagasic patients undergoing upper endoscopy and the other group comprising chagasic (with different clinical forms) and non-chagasic patients who did not undergo this procedure. *H. pylori* (HP) infection was assessed by histology, detection of 16S rRNA gene in gastric tissue by PCR, serology and the ¹³C-urea breath test. Gastrin concentration was measured by chemiluminescence assay. *CagA* expression was examined by PCR. Histological scores were evaluated according to Update Sydney System. The mean serum basal gastrin was significantly higher among chagasic than non-chagasic patients who underwent upper endoscopy than those who did not ($p < 0.05$). No significant differences in the basal serum gastrin concentrations were observed among the different clinical forms of Chagas disease neither among HP-positive and HP-negative patients, chagasic or controls. Patients with digestive form or with the other clinical forms of Chagas disease have increased basal serum gastrin level. Moreover, our findings do not support a direct role of *H. pylori* infection in the increasing gastrin secretion among chagasic patients.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Chagas disease, Gastrin.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ¹³C- carbono 13
- Cag A- *citotoxin antigen associated*
- Cag- PAI: *Pathogenicity island*
- Células D- Células produtoras de somatostatina
- Células G- Células produtoras de gastrina
- DC- Doença de chagas
- DNA- ácido desoxirribonucleico
- ECL- *Enterocromaphin Cell Like*
- EDA- Endoscopia digestiva alta
- ELISA- *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
- et al*- E colaboradores
- H. pylori*- *Helicobacter pylori*
- HP- *Helicobacter pylori*
- Hp- *Helicobacter pylori*
- IgG- Imunoglobulina G
- IL- Interleucina
- kDa- Quilodalton
- MALT- *Mucosa-associated lymphoid tissue*
- MG- Minas Gerais
- p- probabilidade de significância estatística
- pb- Pares de bases
- PCR: Reação em cadeia da polimerase
- pg/mL- picograma por mililitro
- pH- Potencial de hidrogênio iônico
- PMN- células polimorfonucleares
- SPSS- *Statistical Package for the Social Sciences*
- T. cruzi*- *Trypanosoma cruzi*
- Th- células T helper
- TNF- Fator de necrose tumoral
- UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais
- UFTM- Universidade Federal do Triângulo Mineiro

WS- Wartin Starry

χ^2 - Qui quadrado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
	REFERÊNCIAS.....	19
	APÊNDICE A- MANUSCRITO.....	24
	APÊNDICE B- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO.....	25
	APÊNDICE C- PARTICIPAÇÃO CO AUTORES DO ARTIGO.....	27
	ANEXO A- PARECER COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA.....	28

1 INTRODUÇÃO

A bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) foi isolada pela primeira, em 1982, a partir de fragmentos de mucosa gástrica de pacientes com gastrite (Marshall & Warren, 1984). Estudos subsequentes confirmaram a hipótese inicial de que a bactéria estaria associada à gastrite crônica e à úlcera péptica (Mégraud et al., 1992; Blaser, 1995). Posteriormente, a infecção pelo *H. pylori* também foi associada ao linfoma gástrico do tipo MALT e, em 1994, o microrganismo foi considerado pela Organização Mundial de Saúde como um fator essencial na patogênese do carcinoma gástrico (WHO, 1994).

Muitos aspectos da epidemiologia da infecção pelo *H. pylori* ainda não foram esclarecidos, porém, há evidências de que a aquisição ocorre geralmente na infância, na idade pré-escolar, geralmente pela via oral-oral ou fecal-oral, persistindo por toda a vida do indivíduo (Lee, 1994; Cave, 1996; Rocha et al., 2003).

Sabe-se, atualmente, que cerca de metade da população mundial apresenta a bactéria no estômago. Em populações da América do Norte e Norte Europeu, cerca de um terço dos adultos estão infectados, enquanto que no sul e leste da Europa, América do Sul e Ásia, a prevalência de infecção por *H. pylori* é, em geral, maior do que 50% (Eusebi et al., 2014).

No Brasil, a prevalência da infecção por esse microrganismo é bastante variável devido o fato de ser um país continental composto por diversas etnias, hábitos culturais e níveis socioeconômicos (Souto et al., 1998). Em geral, as taxas mais elevadas são encontradas em regiões de nível socioeconômico mais baixo. Em 1987, em um estudo realizado na cidade de Belo Horizonte por Coelho et al. (1987), foi detectada uma prevalência de infecção por *H. pylori* de 82% em pacientes adultos. Posteriormente, Rocha et al. (1998) encontraram uma prevalência mais baixa, de 67% na mesma cidade. Em outro estudo realizado na mesma época em Nossa Senhora do Livramento no estado do Mato Grosso, Souto et al. (1998) demonstraram uma taxa de soroprevalência de 84,7% em pacientes adultos, e níveis próximos foram encontrados por Oliveira et al. (1999) no interior do estado de Minas Gerais (MG), em Araçuaí, onde foi encontrado uma prevalência de 87%. Rocha et al. (2003) encontraram uma prevalência de 69,7% entre adultos e crianças moradores da área rural de Melquíades (MG), enquanto que na cidade de Fortaleza no Ceará, a taxa de infecção pelo *H. pylori* em moradores da área urbana de baixa renda aumentou significativamente com a idade, atingindo 87% naqueles pacientes acima de 60 anos de idade (Rodrigues et al., 2005). Recentemente, Pachecho et al. (2013) compararam vários testes de diagnóstico e relataram uma prevalência

de infecção por *H. pylori* de 41,1% em indivíduos com idade entre 2-19 anos de idade no estado de São Paulo.

Uma vez que a mucosa gástrica é colonizada, a bactéria pode permanecer por décadas ou por toda a vida no hospedeiro. No entanto, a maioria dos indivíduos permanece assintomática à infecção (Hsu et al., 2002; Yamaoka et al., 2010). A infecção pelo *H. pylori* está sempre associada à presença de gastrite, que se caracteriza por reação inflamatória da mucosa com infiltração de leucócitos mono e polimorfo nuclear, em proporção e intensidade variáveis (Israel & Peek, 2001). Por outro lado, as doenças graves associadas à infecção tais como úlcera péptica e a gastrite atrófica, que pode evoluir para o câncer gástrico, ocorrem apenas em cerca de 10-20% dos indivíduos *H. pylori* positivos. Uma série de estudos tem demonstrado que a gênese destas doenças é multifatorial dependendo das características de virulência da bactéria e da resposta imune do hospedeiro (Israel & Peek, 2001).

A capacidade de persistência e adaptação do *H. pylori* ao ambiente gástrico se deve a alguns fatores de virulência, comuns a todas as amostras. Dentre esses fatores está a enzima urease capaz de converter a ureia presente em condições fisiológicas no suco gástrico em amônia, promovendo a alcalinização do ambiente gástrico e protegendo a bactéria dos efeitos deletérios da acidez estomacal (Weeks et al., 2001). Além disso, para atravessar a camada de muco e estabelecer o contato íntimo com o epitélio o microrganismo conta com a morfologia em forma de espiral, flagelos e a produção de lipases e proteases que degradam a camada de muco e facilitam sua progressão (Jenks & Kusters, 2000). Outras enzimas sintetizadas pela bactéria tais como superóxido dismutase, catalase e arginase conferem proteção contra a atividade lítica de macrófagos e neutrófilos, impedindo uma resposta eficaz do hospedeiro (Hazell et al., 1991).

Outros fatores de virulência, presentes somente em algumas amostras de *H. pylori*, parecem estar relacionados ao surgimento das doenças mais graves associadas à infecção. Um desses fatores é a proteína *CagA* (*cytotoxin-associated gene A*) cujo gene se encontra localizado em uma região importante do genoma do *H. pylori* denominada de *cag-PAI* (*pathogenicity island*), contém aproximadamente 37 kb e cerca de 28 genes (Fischer et al., 2001; Suzuki et al., 2012). A presença da proteína *CagA* está associada ao aumento da secreção de interleucina 8 (IL-8), que é importante para a quimiotaxia e para a ativação de neutrófilos (Hsu et al., 2002). Esta proteína é transferida para dentro da célula hospedeira através de um sistema de secreção tipo IV, sendo responsável por remodelações na superfície celular, nas vias de sinalização e de transdução da célula hospedeira, o que resulta em rearranjos do citoesqueleto e alterações morfológicas (Asahi et al., 2000; Watada et al., 2011;

Odenbreit et al., 2000). Há evidências de que indivíduos infectados com amostras *CagA*-positiva, tem um risco aumentado de desenvolver úlcera péptica ou câncer gástrico, comparados com aqueles infectados com cepas *CagA*-negativo (van Doorn et al., 1998; Yamaoka et al., 2002). Além disso, *H. pylori* associada à gastrite é relevante quando há presença da proteína *CagA*, podendo conduzir a hipergastrinemia, pois está relacionada com a deficiência de célula D antral, causada pela infecção pelo *H. pylori* *CagA*-positivo (Kim et al., 1999).

A doença de Chagas é uma enfermidade crônica que afeta cerca de 8 milhões de pessoas em todo o mundo, cujo agente etiológico é o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) que é transmitido principalmente pela via vetorial (WHO, 2012). No Brasil, cerca de 3 a 5 milhões de pessoas se encontram infectadas e, por este motivo, a doença ainda é considerada um grave problema de saúde pública (Prata, 2001). A evolução clínica da doença é altamente variável. Após a contaminação, o indivíduo desenvolve a fase aguda da doença com duração média entre 3 a 8 semanas, que se caracteriza pelo alto parasitismo. Nos indivíduos não tratados, instala-se a fase crônica, de longa duração, caracterizada por baixa parasitemia e pela presença de reposta imune anti-*T. cruzi* com grande diversidade de manifestações clínicas (Prata, 1999; Prata, 2001). Nessa fase crônica da doença, distinguem-se diferentes formas anatomoclínicas, dentre elas, a forma indeterminada, cardíaca, digestiva (megaesôfago e megacólon) e cardiodigestiva (Prata 2001).

Atualmente, acredita-se que a resposta imune dirigida contra o *T. cruzi* ou contra componentes do próprio hospedeiro possa desempenhar um papel importante na patogênese das formas crônicas da doença de Chagas. A fase crônica geralmente se instala pela forma indeterminada, cuja duração é indefinida, podendo persistir por toda a vida em 40 a 50% dos casos. O indivíduo nesse caso é assintomático e apresenta sorologia positiva e exames parasitológicos para *T. cruzi* eventualmente positivos, sendo normais o exame clínico, eletrocardiográfico e os exames radiológicos do coração, esôfago e cólon. No entanto, esses indivíduos podem apresentar um grau de denervação autonômica maior que os indivíduos do mesmo grupo etário não chagásico. A forma indeterminada é a forma clínica mais frequente da doença de Chagas detectada na população das áreas endêmicas e entre doadores de sangue infectados (Macedo, 1997; Ferreira et al., 2002).

As formas crônicas determinadas geralmente evoluem insidiosamente. No Brasil estima-se que a cardiopatia crônica incida em cerca de 25 a 30% dos infectados crônicos e a forma digestiva entre 5 a 10% (Ferreira et al., 2002). A forma crônica cardíaca é a mais importante da doença de Chagas em seres humanos, justamente pela sua alta

morbimortalidade. Nas formas mais graves e progressivas da cardiopatia crônica chagásica, ocorre a morte prematura do paciente (Prata, 2001). A forma digestiva é representada por alterações da secreção gástrica, motilidade, absorção e, nos casos mais graves, pelo megaesôfago e o megacólon. Em geral, nesses pacientes observa-se uma hipossecreção clórido-péptica, paralelamente a um estado de gastrite crônica (Rezende, 1997; Ferreira et al., 2002).

Alguns autores têm demonstrado uma alta prevalência de infecção pelo *H. pylori* em pacientes chagásicos com a forma digestiva (Barbosa et al., 1993; Troncon et al., 1996) e indeterminada (Oliveira et al., 1997) pela análise histopatológica de fragmentos obtidos do estômago.

No estudo realizado por Oliveira et al. (1997) foi demonstrado que 33% dos pacientes chagásicos (7 de 21) com doença de Chagas indeterminada apresentavam úlcera péptica e em 95,2% (20 de 21) foi detectada a presença de *H. pylori* e de gastrite crônica. Dos 7 pacientes com úlcera péptica, 5 não tinham nenhum sintoma dispéptico ou dor.

Posteriormente, dois estudos demonstraram uma maior soroprevalência da infecção pelo *H. pylori* em chagásicos com diferentes formas clínicas da doença, quando comparada com indivíduos não chagásicos. Todavia, não foi observada associação entre infecção pelo *H. pylori* e as diferentes formas clínicas da doença de Chagas (Nascimento et al., 2002, Fonseca et al., 2012).

Alguns estudos têm demonstrado que as infecções por outros agentes infecciosos que ocorrem paralelamente à infecção por *H. pylori* podem modular a resposta imune produzida frente à bactéria e dessa forma, determinar o aparecimento de lesões com maior ou de menor gravidade, dependendo do balanço entre as respostas Th1 e Th2 (Holcombe, 1992; Fox et al., 2000; Whary et al., 2005).

DU et al. (2006) demonstraram que a coinfeção por *Shistosoma japonicum* e *H. pylori*, na população chinesa, estava associada com uma significativa redução dos títulos séricos de IgG anti-*H. pylori* e com uma probabilidade menor de desenvolvimento da atrofia da região do corpo gástrico. Além disso, esses autores encontraram uma soropositividade para *CagA* menor nos indivíduos coinfectados quando comparado com aqueles infectados apenas pelo *H. pylori*. Segundo eles, esses resultados se devem a uma resposta Th2 polarizada que é observada na vigência de uma infecção por helmintos.

Alguns autores têm sugerido que a menor taxa de câncer gástrico na África apesar da alta prevalência de *H. pylori*, se deve pelo menos em parte, a essa indução de resposta imune Th2 provocada pela infecção concomitante com helmintos que é altamente frequente nesse

continente (Holcombe, 1992; Fox et al., 2000). Mitchell et al. (2002), por sua vez, observaram que a resposta imune ao *H. pylori* do tipo Th2 é mais comum na África, enquanto que a resposta Th1 é mais comum na Europa e na Austrália.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa avaliou o estômago de pacientes chagásicos coinfectados com *H. pylori*, não tendo sido observada nenhuma diferença significativa na prevalência de gastrite crônica, úlcera péptica ou gastrite atrófica em relação ao grupo controle sem infecção por esses agentes (Fonseca et al., 2014).

A gastrina é um hormônio sintetizado e liberado pelas células G da mucosa antral gástrica, possui como função principal estimular a secreção de ácido gástrico, atuando nas células enterocromafins (ECL) no corpo gástrico, potencializando a liberação de histamina, que induz as células parietais a secretarem ácido gástrico. A gastrina também estimula diretamente a liberação de ácido gástrico pelas células parietais (Wladum et al., 2014; Watson et al., 2006). A liberação da gastrina é modulada por fatores endócrinos, parácrinos, neurócrinos e externos (luminal), sendo excitada ao longo da borda basolateral e em seguida sendo conduzida à mucosa oxíntica, onde atua (Lloyd, 1994, Watson et al., 2006). A somatostatina é secretada pelas células D no antro gástrico em resposta à acidez luminal e inibe a secreção ácido gástrica atuando diretamente nas células parietais e inibindo a secreção de gastrina pelas células G (Watson et al., 2006).

A hipocloridria/acloridria que se instala, associada à perda das células parietais, diminui a sinalização da atividade dessas células produtoras de ácido às células produtoras de gastrina no antro gástrico. Nesta condição, as células G antrais respondem com uma produção contínua e aumentada do hormônio. Apesar da produção aumentada de gastrina, na ausência das glândulas oxínticas, não ocorre a resposta correspondente ao estímulo hormonal com a esperada produção de ácido, estabelecendo-se um estado de hipergastrinemia sustentada (Carmel, 1988).

A gastrina pode se elevar moderadamente em casos de insuficiência renal e níveis mais elevados de gastrina são detectados em até 90% dos pacientes com atrofia acentuada da mucosa do corpo gástrico, sendo a gastrite atrófica autoimune a causa mais comum de hipergastrinemia (Carmel, 1988; Varro & Ardill, 2003). Nestes pacientes, os níveis de gastrina sérica são 10-20 vezes mais altos que os níveis normais (Freston, 1995). A hipergastrinemia pode ocorrer ainda devido a outras causas além da atrofia gástrica, tais como a síndrome de Zollinger-Ellison ou por efeito medicamentoso de bloqueadores dos receptores H₂ e de inibidores de bomba de prótons (Watson et al., 2006).

Em pacientes com a forma digestiva da doença de Chagas, danos no tecido nervoso do estômago podem ser responsáveis por mudanças na secreção de ácido, de hormônios e na resposta motora, devido à denervação dos plexos nervosos intramurais (Padovan et al., 1977; Da Rocha et al., 2009). A diminuição da acidez gástrica é associada a altos níveis séricos de gastrina basal e pós-prandial (Troncon et al., 1984; Troncon et al., 1985; Troncon et al., 1996). A provável explicação para este aumento da concentração de gastrina em pacientes chagásicos é a redução da liberação de somatostatina, uma vez que foi demonstrado que pacientes com doença de Chagas tem uma redução no número de células D, o que consequentemente levaria a uma redução da inibição da atividade de células G, e ao aumento de secreção de gastrina (hipergastrinemia) (Troncon et al., 1996).

A infecção pelo *H. pylori* também pode resultar em diversas alterações da secreção ácido gástrica. Em geral, a presença de infecção predominantemente na região antral resulta em aumento da secreção gástrica e propensão ao desenvolvimento de úlcera duodenal, enquanto que a infecção predominantemente na região do corpo gástrico pode levar a uma diminuição da secreção ácida e maior chance de desenvolvimento de gastrite atrófica (McColl et al., 1998, Liu et al., 2005).

O aumento da produção de gastrina pode ser causado por citocinas liberadas pelas células inflamatórias durante a infecção pelo *H. pylori*, tais como, IL8, IL1 β e TNF α , que podem estimular as células G a produzirem esse hormônio (Watson et al., 2006). Além disso, foi demonstrado que a somatostatina antral, que inibe a síntese e liberação de gastrina, está diminuída em pacientes *H. pylori*- positivos (Queiroz et al., 1993; Kaneko et al., 1992).

Os estudos que mostram níveis séricos de gastrina aumentados em pacientes com a doença de Chagas avaliaram somente a forma digestiva da doença e foram realizados antes da descoberta do *H. pylori*, que tem sido demonstrado ser altamente prevalente entre os chagásicos. Assim, uma dúvida é levantada sobre o real papel da infecção chagásica sobre os níveis séricos de gastrina nestes pacientes, uma vez que tal elevação poderia estar associada à presença do *H. pylori*. Para tentar esclarecer esta dúvida, o objetivo deste estudo foi avaliar se a hipergastrinemia ocorre em pacientes que apresentam outras formas clínicas da doença de Chagas coinfectados ou não pelo *H. pylori*, visto que, a infecção por essa bactéria também pode levar ao aumento do nível sérico de gastrina. Além disso, também foi avaliado se alterações endoscópicas e histopatológicas gástricas estariam associadas com o nível sérico de gastrina em pacientes chagásicos com a forma digestiva da doença.

REFERÊNCIAS

- Asahi M, Azuma T, Ito S, Ito Y, Suto H, Nagai Y et al. *Helicobacter pylori* CagA protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. *J Exp Medicine*.2000;191(14):593-602.
- Barbosa AJA, Queiroz DMM, Nogueira AMMF, Roquette Reis MJA, Mendes EN, Rocha GA, Romanello LMF, Troncon LEA. Chronic gastritis and *Helicobacter pylori* in digestive form of Chagas' disease.*Rev Inst Med Trop Sao Paulo*.1993;35(2):117-121.
- Blaser MJ. Intrastrain differences in *Helicobacter pylori*: a key question in mucosal damage? *Annals Med*.1995;27(5):559-563.
- Carmel, R. Pepsinogens and other serum markers in pernicious anemia. *Am J Clin Pathol*.1988;90(4):442-445.
- Cave DR. Transmission and epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Am J Med*.1996;100:12S-18S.
- Coelho LG, Das SS, Karim QN, Walker MM, Queiroz DM, Mendes EN, Lima Júnior GF, de Oliveira CA, Baron JH, Castro Lde P. *Campylobacter pyloridis* in the upper gastrointestinal tract: a Brazilian study.*Arq Gastroenterol*.1987;24(1):5-9.
- Da Rocha JRM, Ribeiro U, Cecconello I, Sallum RAA, Takeda F, Nasi A, Szachnowiez S. Gastric secretory and hormonal patterns in end-stage chagasic achalasia.*Dis Esophagus*.2009; 22(7):606-610.
- Du Y, Agnew A, Ye XP, Robinson PA, Forman D, Crabtree JE. *Helicobacter pylori* and *Schistosoma japonicum* co-infection in a Chinese population: helminth infection alters humoral responses to *H. pylori* and serum pepsinogen I/II ratio. *Microbes Infect, Microbes and infection*,2006;8(1):52-60.
- Eusebi LH, Zagari RM, Bazzoli F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*,2014;19(s1):1-5.
- Ferreira MS, Lopes ER, Chapadeiro E, Dias JCP, Ostermayer AL. Doença de Chagas. In: Veronesi R & Focaccia R editors. *Veronesi: Tratado de Infectologia*. 2nd ed. São Paulo: Atheneu;2002.
- Fischer W, Puls J, Buhrdorf R, Gebert B, Odenbreit S, Haas R. Systematic mutagenesis of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8. *Mol Microbiol*. 2001;42(5):1337–1348.
- Fonseca FM, Queiroz DMM, Rocha AMC,Prata A, Crema E, Rodrigues JR V, Ramirez LE, Oliveira AG. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in chagasic and non-chagasic patients from the same geographical region of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*.2012;45(2):194-198.
- Fonseca FM, Etchebere RM, Queiroz DMM, Rocha AMC, Junqueira IS, da Fonseca DN, Rodrigues ALB, Crema E, Oliveira AG. Histological and endoscopic features of the stomachs

of patients with Chagas disease in the era of *Helicobacter pylori*. Rev Soc Bras Med Trop. 2014;7(6):739-746

Fox JG, Beck P, Dangler CA, Whary M, Wang TC, Shi II.N, Anderson CN. Concurrent enteric helminth infection modulates inflammation and gastric immune responses and reduces *Helicobacter*-induced gastric atrophy. Nat Med.2000;6(5):536-542.

Freston JW, Borch K, Brand SJ, Carlsson E, Creutzfeldt W, Håkanson R, Olbe L, Solcia E, Walsh JH, Wolfe MM. Effects of hypochlorhydria and hypergastrinemia on structure and function of gastrointestinal cells. Dig Dis and Sci.1995;40(2):50S-62S.

Hazell SL, Evans DJ, Graham DY. *Helicobacter pylori*. J Gen. Microbiol.1991;137(1):57-61.

Holcombe C. *Helicobacter pylori*: The African enigma. Gut.1992;33(4):429-431.

Hsu PI, Hwang IR, Citty D, Lai KH, El-Zimaity HM, Gutierrez O, Kim JG, Osato MS, Graham DY, Yamaoka, Y. Clinical presentation in relation to diversity within the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. Am J Gastroenterol. 2002;97(9):2231-2238.

Israel DA, Peek RM. Review article: pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. Aliment Pharmacol Ther.2001;15(9):1271-1290.

Jenks PJ, Kusters JG. Pathogenesis and virulence of *Helicobacter pylori*. Current Opinion in Gastroenterol.2000;16:11-18.

Kaneko H, Nakada K, Mitsuma T, Uchida K, Furusawa A, Maeda Y, Morise K. *Helicobacter pylori* infection induces a decrease in immunoreactive-somatostatin concentrations of human stomach. Dig Dis Sci1992;37(3):409-416.

Kim JH, Park JH, Cho JS, Lee KS, Lee SI, Park IS, Kim CK. Relationship of CagA to serum gastrin concentrations and antral G, D cell densities in *Helicobacter pylori* infection. Yonsei Med J.1999;40(4):301-306.

Lee A. The microbiology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Scand. J. Gastroenterol.1994;29(S201):2-6.

Liu Y, Vosmaer GD, Tytgat GN, Xiao SD, Ten Kate FJ. Gastrin (G) cells and somatostatin (D) cells in patients with dyspeptic symptoms: *Helicobacter pylori* associated and non-associated gastritis. J Clin Pathol.2005;58(9):927-931.

Lloyd KC. Gut hormones in gastric function. Baillieres Clin Endocrinol Metab.1994;8(1):111-136.

Macedo VO. Forma indeterminada da doença de Chagas. In: Dias JCP, Coura JR editors. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem clássica para o clínico geral. Rio de Janeiro: FIOCRUZ,1997.p.135-151.

Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet.1984;323(8390):1311-1315.

McCull KEL, El-Omar E, Gillen D. Interactions between *H. pylori* infection, gastric acid secretion and anti-secretory therapy. Br Med Bull.1998;54(1):121-138.

Mégraud F, Lamouliatte H. *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer. Dig Dis Sci.1992;37(5):769-772.

- Mitchell ILM, Ally R, WADEE A, Wiseman M, Segal I. Major differences in the IgG subclass response to *Helicobacter pylori* in the first and third worlds. *Scand J Gastroenterol.* 2002;37(5):517-522.
- Nascimento RS, Valente SR, Oliveira LCM. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in chronic chagasic patients, and in the rural and urban population from Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2002;44(5):251-254.
- Odenbreit S PJ, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science.* 2000; 287(5457):1497-1500.
- Oliveira AMR, Rocha GA, Queiroz DMM, Barbosa MT, Silva SC. Prevalence of *H. pylori* infection in a population from the rural area of Araçuaí, MG, Brazil. *Rev Microbiol.* 1999;30(1):59-61.
- Oliveira LCM, Buso AG, Siqueira Filho L, Moraes F, Oliveira HA, Oliveira RM, Salomão EC. Peptic disease and *Helicobacter pylori* are highly prevalent in patients with the indeterminate form of Chagas' disease: report of 21 cases. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1997;39(4):209-21.
- Pacheco SL, Ogata SK, Machado RS, Patrício FRS, Pardo MLE, Kawakami, E. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection by Means of Reduced-Dose 13C-Urea Breath Test and Early Sampling of Exhaled Breath. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57:607-611.
- Padovan W, Meneghelli UG, Godoy AR. Gastric Secretory and Motility Studies in Chronic Chagasic Patients. *Am J Dig Dis.* 1977;22(7):618-622.
- Prata A. Evolution of the clinical and epidemiological knowledge about Chagas disease 90 years after its Discovery. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999; 94 (suppl. I): 81-88, 1999.
- Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas Disease. *Lancet Infect Dis.* 2001;1(2): 92-100.
- Queiroz DMM, Mendes EN, Rocha GA, Moura SB, Resende LMH, Barbosa AJA, Coelho LGV, Passos MCF, Castro LP, Oliveira CA, Lima GF. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on antral gastrin- and somatostatin-immunoreactive cell density and gastrin and somatostatin concentrations. *Scand J Gastroenterol.* 1993;28(10):858-864.
- Rezende JM. O aparelho digestivo na doença de Chagas: aspectos clínicos. R. In: Dias, JCP, Coura editors. *Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral.* Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1997. p.152 -176.
- Rocha GA, Oliveira AMR, Queiroz DMM, Mendes SEM, Moura SB, Oliveira CA, Ferrari TCA. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection by Cobas Core ELISA in adults from Minas Gerais, Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 1998;31(10):1263-68.
- Rocha GA, Rocha AMC, Silva LD, Santos A, Bocewicz ACD, Queiroz RM, Bethony J, Gazzinelli A, Correa-Oliveira R, Queiroz DMM. Transmission of *Helicobacter pylori* infection in families of preschool-aged children from Minas Gerais, Brazil. *Trop Med Int Health.* 2003;8(11):987-991.

- Rodrigues MN, Queiroz DM, Rodrigues RT, Rocha A, Braga Neto MB, Braga LL. *Helicobacter pylori* infection in adults from a poor urban community in northeastern Brazil: demographic, lifestyle and environmental factors. *Braz J Infect Dis.* 2005;9(5):405-410.
- Souto JJD, Fontes CJF, Rocha AG, Oliveira AMR, Mendes EN, Queiroz DMM. Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in a Rural Area of the State of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998;93(2):171-174.
- Suzuki R, Shiota S, Yamaoka Y. Molecular epidemiology, population genetics, and pathogenic role of *Helicobacter pylori*. *Infect Genet Evol.* 2012;12(2):203–213.
- Troncon LEA, Oliveira RB, Meneghelli UG, Dantas RO, Godoy RA. Fasting and food-stimulated plasma gastrin levels in chronic Chagas' disease. *Digestion.* 1984;29(3):71-176.
- Troncon LEA, Oliveira RB, Meneghelli UG, Dantas RO, Godoy RA. Plasma gastrin and gastric acid response to insulin hypoglycemia in Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res.* 1985; 18(3):273-278.
- Troncon LE, Barbosa AJ, Carvalhais JN, Romanello LM. Lower density of antral somatostatin-immunoreactive cells in the digestive form of chronic Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res.* 1996;29(11):1449-1454.
- van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, Quint W. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol.* 1998;115(1),58-66.
- Varro A, Ardill JE. Gastrin: an analytical review. *Ann Clin Biochem.* 2003;40(5):472-480.
- Waldum HL, Hauso O, Sordal OF, Fossmark R. Gastrin May Mediate the Carcinogenic Effect of *Helicobacter pylori* Infection of the Stomach. *Digestive diseases and sciences.* 2014; 60(6): 1522-1527.
- Watada M, Shiota S, Matsunari O, Suzuki R, Murakami K, Fujioka T, Yamaoka Y. Association between *Helicobacter pylori* *cagA* related genes and clinical outcomes in Colombia and Japan. *BMC Gastroenterol.* 2011;11(1):141.
- Watson SA, Grabowska AM, El-Zaatari M, Takhar A. Gastrin—active participant or bystander in gastric carcinogenesis?. *Nat Rev Cancer.* 2006;6(12):936-946.
- Weeks DL, Sachs G. Sites of pH regulation of the urea channel of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol.* 2001;40(6):1249-89.
- Whary MT, Sundina N, Bravo LE, Correa P, Quinones F, Caro F, Fox JG. Intestinal helminthiasis in Colombian children promotes a Th2 response to *Helicobacter pylori*: possible implications for gastric carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(6):1464-1469.
- WHO-World Health Organization. Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. Technical report of the TDR disease reference group on Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. Report. Geneva; 2012. (WHO- Technical report series, 975).
- WHO-World Health Organization. The evaluation of carcinogenic risks to humans. Report. Lyon, France; 1994. (WHO- International Agency for Research in Cancer Monographs, 61).

Yamaoka Y, Kikuchi S, El-Zimaity HM, Gutierrez O, Osato MS, Graham DY. Importance of *Helicobacter pylori* oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterol*,2002;123(2):414-424.

Yamaoka, Y. Mechanisms of disease:*Helicobacter pylori* virulence factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*.2010;7(11):629-641.

APÊNDICE A- Manuscrito

A Serum gastrin in patients with different clinical forms of Chagas disease co-infected or not with *Helicobacter pylori*

Running title: **Gastrin in chagasic patients with *H. pylori***

Jacqueline Batista Sousa¹

Renata Margarida Etchebehere²

Dulciene Maria de Magalhães Queiroz³

Fernanda Machado Fonseca¹

Iracema Saldanha Junqueira⁴

Sílvia Maria Perrone Camilo⁵

Adriana Gonçalves de Oliveira^{1*}

¹Instituto de Ciências Biológicas e Naturais, ²Serviço de Patologia Cirúrgica, ⁴Serviço de Endoscopia, and ⁵Serviço de Gastroenterologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil.

³Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

***Corresponding author:**

¹Instituto de Ciências Biológicas e Naturais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Praça Manoel Terra, 330, 38015-050, Uberaba, MG, Brazil. E-mail: agoliveira@dcb.uftm.edu.br

APÊNDICE B- Comprovante de submissão

Journal of Gastroenterology and Hepatology: Submission Confirmation for Serum gastrin in patients with different clinical forms of Chagas disease co-infected or not with *Helicobacter pylori*.

De: onbehalfof+jgh.eo+wiley.com@manuscriptcentral.com em nome
de jgh.eo@wiley.com

Enviada: quarta-feira, 10 de junho de 2015 00:03:36

Para: agoliveira@dcb.uftm.edu.br; Jacqueline.uftm@hotmail.com

Dear Miss Oliveira,

Ms: JGH-00874-2015

Title: Serum gastrin in patients with different clinical forms of Chagas disease co-infected or not with *Helicobacter pylori*

The Managing Editor of your manuscript would like to thank you for submitting it to Journal of Gastroenterology and Hepatology. Your manuscript has been successfully uploaded onto JGH Manuscript Central, and as its corresponding author, you will receive future communications via e-mail.

Your manuscript number is JGH-00874-2015. This number will be emailed to your co-authors within 24 hours. This will confirm receipt of your submission and validate the e-mail addresses that you have provided.

The manuscript may be sent to one or more reviewers. The Managing Editor of your manuscript will then contact you as soon as the comments from the reviewers have been received. An initial decision will normally be made within 8 weeks of receipt of a manuscript.

If you need to communicate with me by email, my address is jgh.eo@wiley.com. Please remember to quote your manuscript number in all correspondence with the Editorial Office.

Yours sincerely,

Editorial Assistant

Editorial Office Administrator

Journal of Gastroenterology and Hepatology

APÊNDICE C- Participação de co-autores do artigo

O manuscrito apresentado a seguir foi formatado de acordo com as instruções aos autores da revista *Journal of Gastroenterology and Hepatology*.

Em atendimento ao regulamento do PPGCF, listamos abaixo a participação de cada co-autor, exceto a mestranda e o orientador.

Renata Margarida Etchebehere: Análise histopatológica de fragmentos do estômago de pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta.

Dulciene Maria de Magalhães Queiroz: Leitura e interpretação dos resultados de teste respiratório e participação da redação do artigo.

Fernanda Machado Fonseca: Coleta de dados demográficos e clínicos dos pacientes por meio de entrevista e de análise de prontuários médicos.

Iracema Saldanha Junqueira: Realização do procedimento de endoscopia digestiva alta de pacientes participantes do estudo para obtenção de fragmentos do estômago.

Sílvia Maria Perrone Camilo: Acompanhamento ambulatorial dos pacientes.

ANEXO A- Parecer Comitê de Ética e Pesquisa

ANEXO I: Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO - Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP

Parecer Consubstanciado
PROTÓCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERVIDORES

IDENTIFICAÇÃO
TÍTULO DO PROJETO: ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO POR HELICOBACTER PYLORI E DOENÇA DE CHAGAS
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Adriana Cavalcini de Oliveira
INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFPA
DATA DE ENTRADA NO CEP/UFPA: 14-05-2016
PROTÓCOLO CEP/UFPA: 067

PARECER DO CEP

(O relatório anual ou final deverá ser encaminhado um ano após o início do processo).

DATA DA REUNIÃO

David Nascimento Silva Teixeira
David Nascimento Silva Teixeira
Relator

João Batista Ribeiro
João Batista Ribeiro
Coordenador