

Carlos Alexandre Gonçalves Batista

**Estudo clínico e endoscópico em pacientes com úlcera péptica
gastroduodenal após 1 ano da erradicação do *Helicobacter pylori*.
Avaliação da relação entre o surgimento da esofagite erosiva e a cepa do
Helicobacter pylori erradicado**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção de Título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Gastroenterologia Clínica

Orientador: Prof. Dr. Tomás Navarro Rodriguez

São Paulo
2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Batista, Carlos Alexandre Gonçalves

Estudo clínico e endoscópico em pacientes com úlcera péptica gastroduodenal após 1 ano da erradicação do *Helicobacter pylori*. Avaliação da relação entre o surgimento da esofagite erosiva e a cepa do *Helicobacter pylori* erradicado /

Carlos Alexandre Gonçalves Batista. -- São Paulo, 2006.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Gastroenterologia.

Área de concentração: Gastroenterologia Clínica.

Orientador: Tomás Navarro Rodriguez.

Descritores: 1.HELICOBACTER PYLORI 2.ESOFAGITE/etiologia
3.GENÓTIPO 4.ÚLCERA PÉPTICA 5.REFLUXO
GASTROESOFÁGICO/diagnóstico 6.REFLUXO GASTROESOFÁGICO/etiologia
7.REFLUXO GASTROESOFÁGICO/fisiopatologia

USP/FM/SBD-033/06

Aos meus pais, pelos ensinamentos de caráter, honra e respeito ao ser humano

Aos meus irmãos, pelo amor e eterna amizade

À Syrlene, Fernanda, Paulo e Raphael pelo carinho e compreensão durante esse tempo de trabalho

À memória de meus avós, sempre fundamentais em toda minha vida

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Tomás Navarro Rodriguez, o reconhecimento pela confiança concedida e pela fundamental importância à realização desta Tese.

Ao Dr. Jaime Natan Eisig, pelo total companheirismo e incentivo na elaboração deste trabalho.

Ao Dr. Fernando Macruz Silva, pela sua dedicação e trabalho no desenvolvimento do protocolo.

Ao Prof. Dr. Joaquim Prado Pinto de Moraes Filho, pelas importantes sugestões e estímulos neste trabalho e na Gastroenterologia.

Ao Prof Dr. Flair José Carrilho, pela oportunidade e incentivo à todos pós-graduandos

Ao Prof. Dr. Ernani Geraldo Rolim, pelos preciosos ensinamentos de amor e dedicação à Gastroenterologia.

Ao Prof. Dr. Shinichi Ishioka, pela amizade e pelos ensinamentos em Endoscopia Digestiva

Ao Prof. Dr. Paulo Sakai, pela incansável tarefa de ensinar a Endoscopia Digestiva.

Ao Dr. Cláudio Hashimoto, pelo interesse e eficiência na realização dos exames endoscópicos.

À Dra. Rejane Mattar, pelas valiosas orientações e pela realização dos testes respiratórios e de genotipagem.

Aos colegas Dr. Décio Chinzon e Dr. Ricardo Barbuti, pelo apoio amigo.

Às secretárias Fabiana Renata Soares Bispo, Fátima Gomes e Cláudia de Arruda, pela dedicação e presteza.

À Sra. Sandra Malagutti, pela disposição e apoio estatístico neste trabalho.

Aos pacientes, pela confiança e compreensão durante o seguimento deste estudo

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico do <i>Helicobacter pylori</i>	1
1.2 Úlcera Péptica Gastroduodenal	3
1.3 Lesão da mucosa gástrica pelo <i>H. Pylori</i>	4
1.4 Genotipagem, Demografia e Fatores de Virulência do <i>H. pylori</i>	6
1.5 A Doença do Refluxo Gastroesofágico, Esofagite e o <i>H. pylori</i>	8
2. OBJETIVOS	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Casuística	15
3.2 Critérios de inclusão	15
3.3 Critérios de exclusão	16
3.4 Plano de tratamento e seguimento	18
3.5 Endoscopia e Biópsias	20
3.6 Análise Histológica	22
3.7 Teste Respiratório	23
3.8 Genotipagem	24
3.9 Metodologia Estatística	26

4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Oligonucleotídeos usados para genotipagem do <i>Helicobacter pylori</i>	25
Tabela 2. Sintomas pré e pós-erradicação do <i>Helicobacter pylori</i>	29
Tabela 3. Pacientes com pirose pré e pós-erradicação do <i>H. pylori</i> e periodicidade do sintoma	29
Tabela 4. Genotipagem do gene <i>cagA</i> em biópsias de corpo e antro grupo total de ulcerosos e grupo com esofagite erosiva	33
Tabela 5. Genotipagem <i>cagA</i> e <i>vacA</i> de corpo e antro, grupo total de ulcerosos e grupo com esofagite erosiva	34
Tabela 6. Evolução dos sintomas em todos os pacientes, um ano após a erradicação do <i>H. pylori</i>	34
Tabela 7. Variações médias do índice de massa corpórea (IMC) antes e após a erradicação, em grupos com e sem esofagite	35

RESUMO

Atualmente, muitas são as diretrizes na literatura quanto à influência do *Helicobacter pylori* na Doença do Refluxo Gastroesofágico. Alguns autores acreditam que o *H. pylori* poderia ter um efeito protetor para o desenvolvimento na DRGE e outros até mesmo concluem que o agente possa ser um fator agravante na doença. Muitas publicações nos alertam para o desenvolvimento de sintomas da DRGE, ou mesmo da esofagite, em uma porcentagem razoável de pacientes erradicados pelo esquema tríplice para tratar o *H. pylori*, sendo que aproximadamente 10% teriam DRGE. Na verdade, por essas dúvidas, ainda não foi estabelecido um consenso quanto à importância do *H. pylori* na etiopatogenia da DRGE e suas complicações. Fato também discutido, seria a importância das cepas para a formação da esofagite em pacientes submetidos à erradicação. Talvez as mais virulentas, assim como a presença da “ilha de patogenicidade”(cagA) ou algumas cepas vacuolizantes (vacA), teriam uma maior relação com a prevenção da esofagite. Outro mecanismo importante, apontado por muitos, para a formação da esofagite em pacientes erradicados seria a elevação do índice de Massa Corpórea nesse grupo de pacientes erradicados associados ou não à presença da hérnia hiatal e justificados pela melhor qualidade de vida após melhora dos sintomas depois da erradicação. Em nosso estudo, 148 pacientes com úlcera péptica ativa ou cicatrizada receberam esquema tríplice de erradicação para o *Helicobacter pylori* e foram submetidos a exame endoscópico e ao teste histopatológico das amostras colhidas por biópsias de corpo e antro, teste respiratório com Carbono 14 e urease, antes e após o tratamento. Realizamos a genotipagem do agente, através do PCR, separando amostras de corpo e de antro, para determinar as cepas do agente. Os pacientes foram seguidos ambulatorialmente por um ano e avaliados quanto à melhora ou piora dos sintomas relacionados a DRGE (pirose) e sintomas considerados inespecíficos como a dor epigástrica; também procuramos quantificar o ganho ou perda do IMC. Encontramos 28 pacientes (18,9%) com esofagite erosiva (24 grau A e 4 grau B de Los Angeles) endoscópica após o tratamento do agente. Deste grupo, somente 3 pacientes que não tinham sintomas desenvolveram pirose (2%). A grande maioria dos pacientes se beneficiou com o tratamento, mostrando que 69 (46,6%) melhoraram da pirose e outra grande maioria melhorou dos sintomas inespecíficos. Em 18 pacientes ulcerosos com esofagite, a análise de fragmentos de corpo foi cagA positiva (64,3%) e em amostras de antro 21 eram cagA positivos (75%). Assim como no grupo geral, as cepas vacuolizantes s1b/m1 e s1b foram, respectivamente, as mais encontradas no grupo da esofagite endoscópica. Houve ligeiro aumento nos Índices de Massa Corpórea em pacientes com e sem esofagite, sendo estatisticamente mais significativo nos 120 pacientes sem esofagite. Apesar do aparecimento da esofagite erosiva endoscópica em número razoável de pacientes, a sintomatologia não foi fator determinante, pois muitos melhoraram dos sintomas após o tratamento, e a erradicação não foi importante para determinar o grau de esofagite erosiva. Não foi encontrada nenhuma relação entre a genotipagem do agente e o desenvolvimento de esofagite endoscópica. O

aumento de IMC, também não justifica, em nosso estudo a esofagite em pacientes ulcerosos tratados contra o *H. pylori*.

SUMMARY

Nowadays, there are many directrices in literature as to the influence of *Helicobacter pylori*, in the Disease of Gastroesophageal reflux. Some authors believe that *H. pylori* could have a protective effect to the development of GERD, and others even conclude that the agent may be an aggravating factor in the disease. Many publications alert us to the development of symptoms of GERD, or even the esophagitis, in a reasonable percentage of eradicated patients by the triplicite scheme to treat *H. pylori*, and 10%, approximately, would have GERD. In fact, due to these doubts, a consensus has not been established yet to the importance of *H. pylori* in the GERD's etiopathogenic and its complications. The strains importance to the formation of esophagitis in patients submitted to eradication is another fact that has also been discussed. Maybe the most virulent ones, as the presence of "pathogenical island" (*cagA*) or some other vacuolating cytotoxin (*vacA*), would have a larger relation in the esophagitis prevention. Another important mechanism, pointed by many, to the formation of esophagitis in eradicated patients would be the elevation of Body Mass Index in this group of eradicated patients associated or not to the presence of hiatal hernia and justified by a better quality of life due to symptoms' improvement after eradication. In our studies, 148 patients with active or healed peptic ulcer received triplicite scheme of eradication to the *Helicobacter pylori* and were submitted to endoscopic exams and histopathologic test of gathered samples by body and antro biopsies, respiratory test with carbon 14 and ureasis, before and after treatment. We have done the agent genotyping, through the PCR, separating samples of body and antro, to determine the agent Cepas. The patients have been followed ambulatorially for a year and evaluated as to the improvement or worsening of the symptoms related to GERD (pyrosis) and symptoms considered non-specific as epigastric pain; we have also tried to quantify the gain or loss of Body Mass Index. We found 28 patients (18.9%) with endoscopic erosive esophagitis (24 degree A and 4 degree B of Los Angeles) after agent's treatment. In this group, only three patients who had no symptoms developed pyrosis (2%). Most of the patients benefitted from treatment showing that 69 (46.6%) presented improvement in pyrosis and another great majority improved non-specific symptoms. In 18 ulcerated patients with esophagitis, the body analysis fragments was positive *cagA* (64.3%) and in antro samples of 21 were positive *cagA* (75%). As in the general group, the vacuolizing cepas slb/ml and slb were, respectively, the most found in the endoscopic esophagitis group. There was a slight raise in the BMI in patients with and without esophagitis, and it is, statistically more meaningful in the 120 patients without esophagitis. Even though there was the appearance of endoscopic erosive esophagitis in a reasonable number of patients, the symptmology was not a determining factor, because many have got better after the treatment, and eradication was not important to determine the erosive esophagitis. It was not found any relation between the agent genotyping and the development of endoscopic esophagitis. The raise of BMI does not

justify in our study the esophagitis in ulcerated patients treated against *H. pylori*.

1. INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO DO *Helicobacter pylori*

Em 1983 Marshall e Warren descreveram bacilos aderidos ao epitélio gástrico, protegidos pelo muco e associados à gastrite, não sendo encontrados no epitélio normal, ou em lesões focais tais como úlcera ou neoplasia.

As biópsias de antro gástrico quando colonizadas em meio Ágar Chocolate evidenciaram-se colônias transparentes e com o emprego de técnicas isolou-se o *Campylobacter*. Essas bactérias eram bacilos Gram negativos curvos ou espiralados que não se encaixavam em nenhuma espécie conhecida, morfológica ou bioquimicamente. Foi chamado de *Campylobacter pyloridis* (Goodwin et al, 1985), posteriormente corrigido para *Campylobacter pylori* por Marshall.

Comparação de seqüência de rRNA 16S de *Campylobacter pylori* com outras cinco espécies representativas de *Campylobacter* evidenciou que a distância entre *Campylobacter pylori* e outras espécies de *Campylobacter* era suficiente para excluí-lo do gênero *Campylobacter*. Em 1989, foi criado o gênero *Helicobacter* (Goodwin et al, 1989). Até então, duas espécies haviam sido descritas : *Helicobacter mustelae* que coloniza o estômago do furão (*Mustela putoris*), e *Helicobacter pylori* que coloniza o estômago dos seres humanos. Sabe-se que o estômago do furão se assemelha, anatomicamente e fisiologicamente, com o estômago dos

seres humanos, apresentando gastrite e úlcera gástrica sendo, portanto, excelente modelo animal para se estudar o *Helicobacter* (Fox et al, 1990).

As espécies de *Helicobacter* que colonizam o estômago têm como característica a produção de urease, como já relatado por Labigne et al em 1991 e mais tarde por Dunn & Grutter em 2001, tendo sido associado à cerca de 90% das úlceras duodenais e, em menor frequência das gástricas, como publicação de conferência internacional sobre *H. pylori* no American Journal of Gastroenterology, em 1997.

1.2 ÚLCERA PÉPTICA GASTRODUODENAL

Na fisiologia da secreção gástrica é sabido que o ácido clorídrico é produzido pelas células parietais em resposta a fatores estimulantes como a histamina, acetilcolina e gastrina, esta última liberada pelas células G do antro gástrico em resposta à distensão da câmara gástrica e ao pH intraluminal. Dessa forma, ocorre um *biofeedback* negativo para que haja diminuição dessa secreção ácida, representada pela somatostatina que é liberada pelas células D do antro e fundo gástrico (podendo esta também ser inibida na infecção pelo *H. pylori* devido à hipergastrinemia).

A presença do conteúdo alimentar também é responsável pelo estímulo de mecanismos de proteção da barreira mucosa assim como, a secreção de muco e bicarbonato pela mucosa e liberação sangüínea de prostaglandinas. Quando ocorre um desequilíbrio entre tais fatores de agressão e defesa pode levar ao aparecimento da úlcera. Provavelmente, úlceras duodenais estejam mais associadas com a hipercloridria e as gástricas mais determinadas pela redução de fatores defensivos (McColl et al, 1998). Outro importante fator é a ativação da pepsina em meio ácido, principalmente com pH abaixo de 4, favorecendo a auto-digestão celular e a retro-difusão hidrogeniônica para dentro da célula epitelial (Smoot DT, 1997).

Elementos associados à etiologia da úlcera péptica gastroduodenal envolvem fatores genéticos (grupo sanguíneo tipo O), ocorrência de determinadas síndromes (por exemplo, Zollinger-Ellison), presença da Amiloidose de Van Allen, fatores ambientais (infecção pelo *H. pylori*), uso de drogas (antiinflamatórios não-hormonais e corticosteróides).

1.3 LESÃO DA MUCOSA GÁSTRICA PELO *Helicobacter pylori*

A associação entre a doença ulcerosa péptica e o *H. pylori* pode ser comprovada por vários esquemas terapêuticos nos quais o tratamento da úlcera associado à erradicação da bactéria mostrou tempo menor para a cicatrização e menor risco de recidiva da doença quando comparado àqueles que receberam apenas tratamento anti-secretor (Malfertheiner et al, 2002). Também se acredita que a reinfecção pela bactéria tenha influência na recidiva ulcerosa, principalmente no caso de úlcera duodenal (Zaterka et al, 1995).

Conforme Consenso do *H. pylori* realizado em 2000 por Malfertheiner et al (The Maastricht-II Consensus), a bactéria deve obrigatoriamente ser erradicada em paciente que apresente úlcera gástrica, úlcera duodenal, linfoma tipo MALT (*Mucose Associated Lymphoid Tissue*), gastrite atrófica, pós-ressecção de câncer gástrico, parentes de primeiro grau de pacientes com câncer gástrico, ou ainda, pelo próprio desejo do paciente em receber o tratamento.

A história natural das doenças pépticas vem sofrendo constante transformação e a relação entre a presença do patógeno com a gastrite, úlcera gástrica, úlcera duodenal e câncer gástrico parecem cada vez mais evidentes (Valle et al, 1996). No entanto, este tema vem ganhando espaço também quando relacionamos o *H. pylori* com a Doença do Refluxo Gastroesofágico, sendo ainda discutido a fisiopatogênese do agente como efeito protetor ou indutor da doença esofágica (Labenz et al, 1997).

Geralmente a mucosa gástrica é altamente protegida contra infecções bacterianas, no entanto o *H. pylori* é adaptado a esse nicho ecológico, penetrando na mucosa e movimentando-se livremente além de esquivar-se da resposta imunológica do hospedeiro e induzindo colonização e transmissão (Marshall BJ, 1994).

A infecção gástrica pelo *H. pylori* promove ativação da resposta imune do hospedeiro, manifestada pela produção de citocinas no epitélio e pela infiltração de neutrófilos, macrófagos e linfócitos na mucosa, principalmente associados à infecção por cepas *cagA* (gene associado à citotoxina) positivas. Simultaneamente ocorre produção de anticorpos e linfócitos T ativados, incluindo componentes Th1 e Th2 (linfócitos T auxiliares 1 e 2). No entanto, Gebert em 2003 publicou a interferência das citotoxinas vacuolizantes *vacA* na ativação do linfócito T.

A importância da heterogeneidade da resposta imune é demonstrada pelos polimorfismos das citocinas, interferindo no risco de desenvolvimento de doença (Martin et al, 2005).

1.4 GENOTIPAGEM, DEMOGRAFIA E FATORES DE VIRULÊNCIA DO *Helicobacter pylori*

Os fatores de virulência de cepas de *H. pylori* determinam sua patogenicidade. Atualmente entre os fatores mais estudados estão a citotoxina vacuolizante (*vacA*) e a proteína *cagA* (citotoxina associada ao agente A, um dos componentes da ilha de patogenicidade *cag*). A citotoxina vacuolizante é codificada pelo gene *vacA* que está presente em todas as bactérias, entretanto, a proteína *vacA* de 94kDa é expressada em apenas 50-65% das cepas do *H. pylori*. O gene *vacA* apresenta quatro tipos de seqüências sinalizadoras (s1a, s1b, s1c e s2) e dois tipos de seqüências moduladoras (m1 e m2).

Os genótipos s1a parecem ser mais patogênicos que o s1b e s2, foram mais freqüentemente associados à doença ulcerosa e adenocarcinoma gástrico. As cepas m1 parecem ser mais virulentas que as m2. A associação de duas regiões genômicas determinará a produção de citotoxina e o seu potencial patogênico (Kidd et al, 2001). Dessa forma, as linhagens *vacA* s1/m1 produzem grande quantidade de citotoxina, enquanto as linhagens s1/m2 produzem quantidade moderada, e as linhagens s2/m2 não produzem citotoxinas ou a fazem em pequena quantidade (Atherton et al, 1995).

No Brasil, América do Sul e Península Ibérica predominam os alelos s1b e m1 em relação aos alelos m2. Torna-se, ainda, importante

ressaltar que a prevalência das cepas s1 nos países ocidentais foram relacionadas com a úlcera gastroduodenal e carcinoma gástrico, enquanto que as cepas s1a/m1 são mais prevalentes em países orientais como Japão, China e Coréia (Van Doorn et al, 1999).

O outro fator de patogenicidade é o antígeno *cagA* de 128 kDa existente nos genomas de algumas cepas de *H. pylori*, que toma parte na região I da ilha de patogenicidade *cag*. A ilha de patogenicidade *cag* é constituída em torno de 29 genes que codificam componentes bacterianos e podem induzir inflamação. A produção de citocinas modula a intensidade da resposta inflamatória e está relacionada com a virulência bacteriana. O *cagA* tem sido apontado como marcador da presença da “ilha de patogenicidade no microorganismo” (Ikenoue et al, 2001), estando geralmente associado com a citotoxina *vacA* s1.

Além disso, o gene *cagA* é de fundamental importância no que se refere a adesão de outras bactérias à célula epitelial, pois a proteína *cagA* quando penetra na célula sofre ação de enzimas celulares, modificando o citoesqueleto e determinando fator de adesividade bacteriana e de tropismo a superfície da célula epitelial.

Pacientes com câncer gástrico e úlcera péptica gastroduodenal apresentam proteínas *cagA* com maior número de sítios de fosforilação, sendo esta realizada na célula do hospedeiro pelas quinases (Atherton et al, 1997).

Mais recentemente, um novo fator de virulência foi identificado, a proteína inflamatória da membrana externa (*outer inflammatory protein-*

OipA), sendo uma das 32 proteínas que compõe a família das proteínas da membrana externa do *H. pylori* (Yamaoka et al, 2001), atuando significativamente na habilidade das cepas com a ilha de patogenicidade *cag* presente em promover a inflamação mucosa (Warburton UJ, 2001).

Desta forma, os fatores de virulência associados ao microorganismo são insuficientes para explicar todas as diferentes evoluções possíveis da infecção por *H. pylori*. O padrão e a intensidade do processo inflamatório na mucosa gástrica constituem os determinantes principais do desfecho clínico e estão relacionados não só aos fatores bacterianos, mas também ao hospedeiro e ambiente.

O controle da cura da infecção deve ser realizado em um período de um a três meses após o término do tratamento, sendo quanto mais próximo do terceiro mês menor é a chance de ocorrerem resultados falso-negativos. O teste respiratório com uréia marcada com carbono 13 ou 14 constitui método não invasivo ideal para realizar o controle da erradicação (Mattar et al, 1999), assim como o teste de urease e histologia estão para o diagnóstico do agente, todos com alta sensibilidade e especificidade e de custos razoavelmente acessíveis a nossa realidade social.

1.5 A DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO, ESOFAGITE E O *Helicobacter pylori*

Ainda não está totalmente estabelecido, assim como no consenso de Maastricht II em 2000 (Malfertheiner et al, 2000), qual a relação direta

entre a presença do *H. pylori* no estômago e a acentuação ou a predisposição da Doença do Refluxo Gastroesofágico, ou mesmo de suas complicações assim como a esofagite erosiva, esôfago de Barrett e adenocarcinoma esofágico. Portanto procurou-se neste estudo a análise comparativa desses pacientes ulcerosos, com *H. pylori* e sua observação quanto à caracterização de sintomas dispépticos, sintomas relacionados ao Refluxo Gastroesofágico e suas cepas do agente, após um ano de tratamento de erradicação e monitorização ambulatorial.

A DRGE foi conceituada pelo II Consenso Brasileiro da Doença do Refluxo Gastroesofágico (Moraes-Filho et al), realizado em 2002, como afecção crônica decorrente do fluxo retrógrado de parte do conteúdo gastroduodenal para o esôfago e/ou órgãos adjacentes a ele, acarretando um espectro variável de sintomas e/ou sinais esofagianos e/ou extra-esofagianos, associados ou não a lesões teciduais.

As principais manifestações clínicas típicas da DRGE são: pirose (referida por muitos pacientes como azia) e regurgitação ácida.

Segundo trabalhos Norte-Americanos cerca de 44% da população adulta desenvolve sintomas, principalmente pirose, pelo menos uma vez por mês e 10% uma vez ao dia (2) e em nosso meio, 22,5% referiram pirose ou regurgitação, pelo menos, uma vez por semana e 42,9% pelo menos uma vez por mês (Moss et al, 2003).

A fisiopatologia da Doença do Refluxo Gastroesofágico parece não estar diretamente relacionada ao aumento de sua prevalência populacional nos últimos anos, sendo esta envolvida por um largo

espectro de desordens orgânicas que resultam no refluxo ativo do conteúdo gástrico, que por sua vez ocupa a mucosa esofágica provocando uma rica variável de sintomatologia da doença. Observa-se que a DRGE vem no mundo todo ganhando dimensões, sendo a mais comum patologia esofágica, o que impulsiona ainda mais muitos autores a pesquisá-la ainda mais.

A característica fisiopatológica mais aceita e conhecida trata-se do Relaxamento Transitório do Esfíncter Inferior do Esôfago (RTEIE), sendo este fator associado ou não a outros fenômenos como a maior distensibilidade próxima à junção esofagogástrica, hérnia hiatal, dismotilidade esofágica, distúrbios do *clearance* esofágico, potencial ácido ou alcalino do material refluído e a presença do reservatório no fundo gástrico de suco gástrico com maior acidez que o conteúdo habitual, sendo particularmente agressivos a mucosa próxima da região escamo-colunar, como relatado por Niemantsverdriet et al 1997 e por Peitz et al em 2004.

De fato, a presença da gastrite na região de corpo gástrico com predomínio celular oxíntico pode reduzir a secreção ácida determinando um refluxo menos ácido (Hirshowitz et al, 1996; Feldman et al, 1999); foi observado que esses pacientes têm pico ácido, após a infusão de pentagastrina, menor que em indivíduos normais. (PDAPg 24,8 mmol/hora na gastrite crônica, PDAPg 32,3 mmol/hora em pacientes sem gastrite de corpo).

Recente considerável estudo de Martin Gough publicado em 2005¹⁶, analisou o potencial maligno na DRGE relacionada à ação do polimorfismo das citocinas em 456 pacientes com DRGE e suas complicações como esofagites, esôfago de Barrett com e sem displasia e adenocarcinoma. Chegou-se a conclusão que a interferência da interleucina-1 estava mais associada ao esôfago de Barrett do que a esofagite não-complicada, assim como a interleucina-10 está mais associada com o esôfago de Barrett e adenocarcinoma do que a própria esofagite. Não houve diferenças do polimorfismo da interleucina-1 β , 4R e do fator de necrose tumoral TNF- α (Rad et al, 2004).

Atualmente sabemos que para o diagnóstico da DRGE é necessário que pelo menos um dos três fatores a seguir esteja presente: lesão da mucosa esofágica induzida pelo contato do ácido; sintomatologia capaz de alterar a qualidade de vida do paciente; e por fim, quando os riscos de complicações assim como estenoses, úlceras de esôfago ou esôfago de Barrett já se mostram eminentes.

Provavelmente não há relação estreita entre a intensidade dos sintomas e a quantidade do conteúdo ácido presente no esôfago acometido, mas sim com o tempo de permanência e o seu potencial hidrogeniônico em sua concentração (Graham et al, 2000; Graham et al, 2003).

Sabe-se na atualidade que muitos pacientes com esofagite erosiva, tratados de forma eficaz e correta, podem continuar apresentando uma variedade de sintomas persistentes demonstrando

que outros fatores ainda além de nosso conhecimento podem estar envolvidos nessa situação. Seria o *Helicobacter pylori*, ou a sua ausência, um desses fatores e, portanto fundamental para a prevenção das complicações da DRGE ? (Richter et al, 1998).

No entanto ainda no auge dos estudos da DRGE, alguns autores em 1999 relatavam que aproximadamente 50% dos pacientes que apresentavam gastrite crônica de corpo tinham menor risco de apresentar sintomas relacionados à esofagite, bem como esofagite endoscópica.

Holtmann et al, também em 1999, só tratou pacientes com esofagite utilizando inibidor de bomba protônica sem eliminar o *H. pylori* e concluiu que 96,4% desses pacientes tinham melhor cicatrização durante oito semanas de tratamento, e 86,6% melhoraram após quatro semanas de terapêutica clínica.

Isso ocorreu um ano após uma importante publicação de Varanasi que afirmava a prevalência do *H. pylori* como sendo de 42% em pacientes sem esofagite contra 30,7% naqueles que tinham esofagite (Varanasi et al, 1998). Mais tarde, alguns autores chegaram a índices ainda maiores com 50% dos pacientes *H. pylori* positivos sem manifestações da DRGE contra 40% dos *H. pylori* positivos com DRGE.

Uma notável revisão bibliográfica de 20 estudos foi realizada em 2003 por Raghunath et al, para determinar a prevalência da infecção pelo *H. pylori* em pacientes com DRGE, encontrando um importante fator protetor para DRGE. No mesmo ano, Zentilin et al chegaram a conclusões um tanto conflitantes, finalizando que o *H. pylori* não é fator participante

da fisiopatogênese da esofagite e do refluxo gastroesofágico com resultados de 31% de pacientes com DRGE, índice praticamente igual ao seu grupo controle.

Em meados de 2003 Graham ³⁴ realizou um evidente estudo epidemiológico da DRGE, tendo como conclusão que o tempo de contato ácido sobre a mucosa esofágica do paciente erradicado pelo *H. pylori* é cerca de 15 vezes maior que nos pacientes não erradicados, durante cinco anos, assim como potencial hidrogeniônico da solução ácida.

Ainda mais recentemente, um estudo que não correlacionou a DRGE ao *H. pylori* foi publicado em 2004 (Gillen D e McColl KEL, 2004) e confirma que a erradicação do *H. pylori* com inibidores de bomba protônicas pode levar ao rebote agudo com aumento da secreção ácida após a interrupção do tratamento, sendo este fenômeno observado até dois meses após a erradicação; parece que esta secreção ácida rebote não é observada nos pacientes que continuam positivos para o *H. pylori*, estudando-se 12 indivíduos *H. pylori* negativos e 20 *H. pylori* positivos, todos receberam 40mg/dia de omeprazol sendo submetidos a estudos de secreção ácida antes, durante e 56 dias após o tratamento. Talvez isso aumente o grau de dependência da terapia com IBPs principalmente em pacientes com sintomatologia relacionada a DRGE.

2. OBJETIVOS

Identificar o aparecimento de esofagite erosiva endoscópica, em um grupo de pacientes com úlcera péptica (gástrica ou duodenal), sendo que todos os pacientes apresentem-se como *H. pylori* positivos no primeiro exame endoscópico confirmado por três métodos (histologia, teste respiratório e uréase) e associar com sintomatologia específica para a Doença do Refluxo Gastroesofágico (pirose) e sintomas inespecíficos (eructação, náuseas, vômitos, dor epigástrica e plenitude pós-prandial), antes e após serem todos erradicados com esquema para o *H. pylori*.

Relacionar a erradicação com o grau de esofagite encontrada, determinando se o tratamento influencia a intensidade da esofagite erosiva endoscópica encontrada, através da Classificação de Los Angeles.

Agrupar a genotipagem do *H. pylori* e relacionar as cepas encontradas em corpo e antro, comparando os grupos de esofagite desenvolvida após a erradicação com o grupo geral de ulcerosos. Verificar se há influência do gene *cagA* ou das proteínas vacuolizantes *vacA* como fator protetor ou indutor da DRGE.

Determinar, através do índice de massa corpórea, se houve influência em algum grupo que pudesse justificar o aparecimento de esofagite, sendo todos os pacientes acompanhados por um período de um ano via ambulatorial.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo de Coorte longitudinal e aberto avaliando-se após um ano de acompanhamento ambulatorial pacientes que realizaram erradicação para o *Helicobacter pylori* com úlcera péptica gástrica e/ou duodenal. O estudo teve início em março de 2002.

Os pacientes selecionados foram acompanhados no ambulatório da Disciplina de Gastroenterologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, obedecendo aos critérios da Declaração de Helsinque. Todos os pacientes foram informados sobre a natureza do estudo e obtido seu consentimento legal.

O protocolo foi aprovado pelas Comissões Ético-Científicas do Departamento de Gastroenterologia e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.1 CASUÍSTICA

Foram avaliados 148 pacientes segundo os critérios de inclusão e exclusão descritos a seguir.

3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram os seguintes critérios de inclusão utilizados :

* idade mínima de 18 anos e máxima de 85 anos de ambos os sexos;

- * endoscopia digestiva alta evidenciando úlcera péptica gástrica e/ou duodenal em atividade, em remissão ou cicatrizada (A, H ou S segundo a classificação de Sakita);
- * teste positivo para a presença de *Helicobacter pylori*, confirmado pelos métodos: urease, histologia e teste respiratório com carbono 14(¹⁴C);
- * determinação da genotipagem do *H. pylori* através do método da reação de polimerização em cadeia (PCR) e do seqüenciamento nucleotídico para determinação de alelos *cagA* e *vacA* e;
- * concordar voluntariamente em participar do estudo, dando seu consentimento informado por escrito.

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram os seguintes critérios de exclusão utilizados:

- * utilização de antiinflamatórios não-hormonais cronicamente ou nas 4 semanas que antecederam o início do estudo;
- * uso de antibióticos ou quimioterápicos nas 4 semanas que precederam o início do estudo;
- * consumo prévio de antibióticos macrolídeos;
- * úlceras pépticas complicadas por hemorragia;
- * estenose do canal pilórico;
- * esofagite erosiva antes de iniciar o esquema terapêutico para o *H. pylori*;
- * esôfago de Barrett (longo ou curto);
- * doenças benignas obstrutivas do esôfago;

- * neoplasias malignas do esôfago;
- * mulheres grávidas ou amamentando;
- * ressecção gástrica ou vagotomia prévia;
- * doenças consuptivas;;
- * insuficiência renal aguda ou crônica ou hepática aguda ou crônica;
- * tratamento prévio para erradicação do *Helicobacter pylori*;
- * participação em outro(s) estudo(s) clínico(s) nos últimos dois meses;
- * pacientes que não consigam erradicar a bactéria com os esquemas de tratamento a serem realizados;
- * pacientes que venham necessitar de uso crônico de AINEs (anti-inflamatórios não-esteroidais) durante o seguimento a longo prazo;
- * perder o seguimento por período maior que oito meses;
- * uso de drogas ilícitas, inclusive álcool em dosagem que caracterize alcoolismo; ou acima de 50 gramas por dia de etanol;
- * doenças crônicas, cuja sintomatologia possa propiciar viés na análise de sintomas dispépticos, por exemplo: diabetes mellitus descompensado, neuropatias, tireoidopatias descompensadas, moléstias infecciosas crônicas sob tratamento prolongado, doenças pulmonares obstrutivas crônicas sob descompensação, miocardiopatias dilatadas ou hipertróficas descompensadas e pacientes com distúrbios psiquiátricos que inviabilizem o acompanhamento ambulatorial e;
- * pacientes re-infectados pelo *H. pylori*, quer por recidiva ou recrudescência após receberem esquema adequado de erradicação foram excluídos desse protocolo.

3.4 PLANO DE TRATAMENTO E SEGUIMENTO

As medicações utilizadas para erradicação do *H. pylori* foram claritromicina 500mg, lansoprazol 30mg e amoxicilina 1000mg, sendo todas fornecidas no esquema posológico de duas vezes ao dia, durante sete dias de tratamento consecutivo.

Durante o estudo não foi permitido o uso de medicação de apoio para o tratamento das queixas gastrintestinais, que não antiácidos e procinéticos usados sintomaticamente, sendo todos os pacientes avaliados em consultas ambulatoriais extras. Não foi permitido o uso de inibidores de bomba protônica ou bloqueadores dos receptores de histamina até que o paciente terminasse o período de um ano de acompanhamento ambulatorial e terminasse nosso estudo.

A administração de outras medicações necessárias para os pacientes foram permitidas para doenças agudas intercorrentes ou crônicas, ficando a critério médico a exclusão de pacientes que venham a necessitar de medicamentos de uso crônico, com conhecidos efeitos dispépticos ou relacionados a DRGE como xantinas, broncodilatadores beta-agonistas, quimioterápicos, morfínicos e meperidínicos e alguns antibióticos por uso prolongado.

Todos os pacientes portadores de úlcera péptica já eram incluídos no protocolo apresentando *H. pylori* positivo através da biópsia endoscópica de antro e corpo gástrico, bem como o teste de urease.

O estudo atual procurou acompanhar esses pacientes entre a primeira visita e a sétima, sendo avaliados clinicamente quanto aos seus principais sintomas, piora e efeitos colaterais aos medicamentos.

Tivemos como objetividade a quantificação do principal sintoma relacionado à Doença do Refluxo Gastroesofágico que é a pirose retroesternal, e a presença de sintomas aqui classificados como inespecíficos, assim como dor epigástrica, eructações, náuseas, vômitos e plenitude pós-prandial também foram referidas e pesquisadas.

Caracterizamos aqui a pirose (referida por muitos pacientes com azia) como sensação de queimação retroesternal que pode se estender do manúbrio até a base do pescoço e podendo atingir a cavidade oral e orofaringe (Mincis M, 1997). Os pacientes com sintoma de regurgitação ácida foram neste grupo incluídos, já que se tratam de indivíduos expostos aos mesmos fatores de risco decorrentes da exposição ácida e comprometimento de sua qualidade de vida decorrente ao DRGE (Lundell L, 1994).

Pacientes com dor epigástrica foram deferidos como sintomatologia álgica no andar superior do abdome, em caráter de pontada ou queimação, independente de haver irradiação para qualquer outra topografia do abdome. Os grupos de pacientes com outros sintomas inespecíficos como náuseas (sensação iminente de vômito), Vômitos (somente quando seguidos de náuseas), eructação (eliminação de ar pela cavidade oral proveniente da aerofagia) e empaixamento ou plenitude gástrica (sensação de saciedade precoce imediatamente após a fase pós-

prandial) também foram neste trabalho pesquisados, mas não quantificados.

O período entre a visita inicial e a segunda visita era de 10-15 dias, sendo que a terceira visita ocorria de 7-10 dias após a segunda. As demais visitas ao ambulatório eram realizadas entre 30-90 dias totalizando oito visitas.

Interrogou-se a todos indivíduos estudados do protocolo na primeira consulta sexo, idade, tempo de sintomas, tempo de diagnóstico, tabagismo (mais que cinco cigarros por dia ou menos de cinco cigarros por dia), uso de antiinflamatórios não-esteroidais (AINES) ou corticosteróides.

Também faziam parte do questionário, quanto à sintomatologia, a presença de cefaléia, hemorragia digestiva alta ou baixa e disfagia.

Outro importante parâmetro clínico utilizado entre a primeira e a última consulta foi o Índice de Massa Corpórea (IMC) calculado pela divisão do valor do peso do paciente em quilograma (kg) e o quadrado da sua altura em metros (m).

3.5 ENDOSCOPIA E BIÓPSIAS

Os exames de Endoscopia Digestiva Alta foram realizados com Videoendoscópio Olympus, modelo GIF-100, para avaliar as lesões da

mucosa gástrica e esofágica. Foram utilizadas soluções de glutaraldeído a 2% para limpeza do aparelho e das pinças de biópsias por trinta minutos.

Para a análise histológica foram coletados fragmentos da mucosa gástrica por biópsias, sendo uma amostra de corpo e outra de antro para esta finalidade, mais dois fragmentos das respectivas regiões do estômago para o teste de urease e mais duas amostras para análise da genotipagem do *H. pylori*.

Para a classificação endoscópica da úlcera péptica utilizamos a classificação de Sakita (1971,1973), no entanto não foi de nosso interesse a subdivisão de suas fases, sendo nossos pacientes ulcerosos classificados com úlcera ativa (*active-A*), em cicatrização (*healing-H*) ou cicatrizada (*scar-S*):

Active (A1 e A2): A lesão evidencia bordas nítidas, bem definidas, podendo apresentar fundo necrótico ou já aparecendo resíduo fibrinoso e espesso.

Healing (H1 e H2): A fibrina torna-se mais tênue, a convergência de pregas é mais nítida, assim como a hiperemia peri-lesional é mais evidente.

Scar (S1 e S2): Cicatriz vermelha com reação inflamatória residual ou branca com retração adjacente variável.

Utilizou-se a classificação endoscópica de Los Angeles para DRGE:

Grau A: uma ou mais erosões menores que 5mm, não se estendendo entre as cristas de duas pregas da mucosa;

Grau B: uma ou mais erosões maiores que 5mm, que não se estendam entre as cristas de duas pregas mucosas;

Grau C: erosões que se estendem entre as pregas mucosas comprometendo, no entanto, menos de 75% da circunferência esofágica;

Grau D: erosões que comprometam mais de 75% da circunferência do esôfago.

Neste estudo utilizamos o termo “pequeno tamanho” para a denominação de hérnia hiatal, ou seja, quando a transição esôfago-gástrica estiver situada entre maior que 2,0 e menor ou igual a 3,0 centímetros acima da área correspondente ao pinçamento diafragmático, conforme classificação aceita pela Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva publicada (SOBED) em 2000.

3.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Os fragmentos obtidos por biópsias foram fixados em formol a 10%, sendo as secções coradas pelo método da hamatoxilina-eosina (HE) e analisado pelo patologista de forma sistemática para a presença ou não do patógeno.

Nesse estudo não levamos em consideração a presença de gastrite, intensidade ou o grau de inflamação, bem como a presença ou

não de metaplasia gástrica ou duodenal, atentando-se somente à presença do *H. pylori*.

Todas as úlceras gástricas foram biopsiadas para análise histológica obedecendo critério universal, sendo de fundamental importância a diferenciação e acompanhamento para observar sinais de malignidade.

3.7 TESTE RESPIRATÓRIO

É determinado pela degradação da uréia pela urease produzida pelo *H. pylori*, o que resulta na formação de bicarbonato (HCO_3^-) e amônia (NH_4^+). O bicarbonato obtido alcança a circulação sanguínea e é expirado pelo pulmão sob a forma de gás carbônico (CO_2) (Marshall et al, 1991).

Os pacientes deviam se apresentar em jejum de 6 horas, sendo realizada uma lavagem da cavidade oral e orofaringe com solução dentífrico para evitar interferência das bactérias produtoras de urease presentes na faringe; em seguida o paciente ingeria uréia marcada com ^{14}C diluídos em 20 ml de água mineral. Depois de 20 minutos, o paciente soprava em um tubo de silicone acoplado a um frasco intermediário conectado à solução de hidróxido de benzetônio 1mM em metanol com timolftaleína. A solução de hidróxido de benzetônio como é alcalina, determina cor azul na presença da timolftaleína. Quando o paciente

soprava ocorria a viragem da cor azul para incolor, significando que 1mM de CO₂ dissolveu-se no líquido. A essas amostras colocavam-se 10 ml de solução cintilante, sendo feita a contagem em cpm (ciclos por minuto), em contador Beta Beckman, modelo LS 100C. Quando a contagem era inferior ou igual a 562cpm, o exame era considerado negativo. Entre 562 e 1.000 cpm eram considerados duvidosos e acima de 1.000 cpm, positivos

25

3.8 GENOTIPAGEM

Foi extraído o DNA das amostras da mucosa de corpo e antro gástrico por meio de biópsias para todos os pacientes com teste positivo para histologia, urease e respiratório.

Através da utilização dos Oligonucleotídeos (“primers” específicos), regiões da seqüência sinalizadora sinal(s) e da seqüência do meio (m) da citotoxina *vacA* e do gene *cagA* foram amplificadas por reação de polimerização em cadeia (PCR) no termicolo 2400 da Perkin Elmer.

É importante relatar que definimos aqui o que encontramos como “cepas mistas” aos genótipos relacionados às cepas do *H. pylori* que apresentem em uma só genótipagem, mais de uma proteína da seqüência sinalizadora (S1a, S1b, S2) ou mais de uma proteína de localização

moduladora (m1 e m2) do gene *vacA*, independente de ser *cagA* positivo ou não.

Empregou-se também um jogo de nucleotídeos que amplifica o gene *Ag*, codificador do antígeno de 26 kDa, presente em todas as cepas de *Helicobacter pylori* (Tabela 1). Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose corado pelo brometo de etídio.

Tabela 1- Oligonucleotídeos usados para genotipagem do *H. Pylori*- Alelos *vacA*, *cagA*, *Ag*

Região	Nome	Seqüência	Tam do pro PCR
m1	VA3-F VA3-R	5'-GGTCAAAATGCGGTCATGG-3' 5'-CCATTGGTACCTGTAGAAAC-3'	290 bp
m2	VA4-F VA4-R	5'-GGAGCCCCAGGAAACATTG-3' 5'-CATAACTAGCGCCTTGCAC-3'	352 bp
s1a	SS1-F VA1-R	5'-GTCAGCATCACACCGCAAC-3' 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'	190 bp
s1b	SS3-F VA1-R	5'-AGCGCCATACCGCAAGAG-3' 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'	187 bp
s2	SS2-F VA1-R	5'-GCTAACACGCCAAATGATCC-3' 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'	199 bp
<i>cagA</i>	CAG-1 CAG-2	5'-AGACAACCTTGAGCGAGAAAG-3' 5'-TATTGGGATTCTTGGAGGCG-3'	320 bp
<i>Ag</i>	P1 P2	5'- TGGCGTGTCTATTGACAGCGAGC- 3' 5'- CCTGCTGGGCATACTTCACCATG-3'	298 bp

3.9 METODOLOGIA ESTATÍSTICA

As variáveis quantitativas foram representadas por média, desvio padrão (dp), valores mínimo e máximo e frequências absolutas (n) e relativas (%)

A comparação entre os grupos de interesse quanto às variáveis qualitativas foi realizada pelo Teste do Qui-quadrado.

Foi aplicada a Prova não paramétrica de Kruskal-Wallis para amostras independentes na comparação entre os grupos em relação aos escores de sintomas.

A comparação entre as avaliações inicial e pós-tratamento dos escores de sintomas foi realizada pela Prova de Wilcoxon, para amostras relacionadas.

Adotou-se o nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$) e níveis descritivos (p) inferiores a esse valor foram considerados significantes e representados por *

4. RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 148 pacientes com úlcera péptica, sendo 96 do sexo feminino (64,8%) e 52 do sexo masculino (35,2%), com idade entre de 18 e 82 anos (média de 46,5 anos).

A úlcera duodenal estava presente em 106 pacientes (71,6%), úlcera gástrica em 26 pacientes (17,5%) e úlcera gástrica e duodenal em 16 pacientes (10,8%). Todos eram *H. pylori* positivos pelos testes de urease, histologia e respiratório com ¹⁴C.

O tempo de sintomas referido pelos pacientes na primeira consulta foi entre 15 dias e 30 anos (média 8,3 anos) e o tempo de diagnóstico teve a mesma variação, no entanto, a média foi menor (4,5 anos).

Do total, 99 pacientes (66,9%) não eram tabagistas, porém 10 pacientes (6,8%) consumiam menos de 5 cigarros por dia e 39 (26,3%) utilizavam mais de 5 cigarros ao dia. Destes 49 pacientes tabagistas 6 pacientes (33,1%) tiveram esofagite (4% do grupo total), o que equivale a 21,4% dos indivíduos com esofagite erosiva ao exame de endoscopia digestiva alta.

Na avaliação clínica que antecedeu a erradicação do *Helicobacter pylori*, tivemos 90 pacientes (60,8%) com pirose sendo que: 66 pacientes com pirose no grupo de úlcera duodenal (44,6%), 18 no grupo de úlcera gástrica (12,1%) e 6 no grupo de ambas as úlceras (4,1%). No grupo de pacientes que referia pirose 32 (21,6%) a relatavam diariamente, 17 (11,4%) não conseguiam quantificar o sintoma e 23 (15,5%) tinham pirose

mais que uma vez por semana e 18 (12,1%) até uma vez por semana. Cinquenta e oito pacientes (39,2%) não referiam pirose.

Entre os sintomas inespecíficos, obtivemos ainda na primeira consulta a dor epigástrica em 134 pacientes (90,5%), eructação em 94(63,5%), náuseas em 75(50,7%), vômitos em 68(45,9%) e plenitude gástrica em 53(35,8%) vide Tabela 2.

Na avaliação clínica feita um ano após a erradicação, 48 pacientes apresentavam pirose, 15 (10,1%) referiam até uma vez por semana, 6 (4,1%) mais que uma vez por semana, 20 (13,5%) não conseguiam quantificar e 7 (4,7%) todos os dias da semana.

Após o tratamento, 69 (46,6%) pacientes melhoraram da pirose, sendo que 41, dos que tinham inicialmente pirose, se tornaram assintomáticos após a erradicação (27,7%). Observamos que 23 (15,5%) pacientes que já tinham pirose antes do tratamento pioraram após o esquema de erradicação e 52 pacientes com relação ao sintoma da pirose não sofreram alteração (35,1%). Vinte e seis pacientes (17,5%) apresentaram pirose após o tratamento e não tinham o sintoma na consulta inicial, mas somente três deles tinham esofagite erosiva (2%). Vide Tabela 3.

Com relação aos sintomas inespecíficos, foram observados dor epigástrica em 56(37,8%), eructação em 45(30,4%), náuseas em 43(29,1%), vômitos em 29(19,6%) e plenitude gástrica em 18 pacientes (12,2%).

Tabela 2- Sintomas pré e pós-erradicação do *Helicobacter pylori*.

SINTOMAS	PRÉ-ERRADICAÇÃO	PÓS-ERRADICAÇÃO
Dor epigástrica	134 (90,5%)	56 (37,8%)*
Náusea	77 (52,0%)	43 (29,1%)*
Vômito	68 (45,9%)	29 (19,6%)*
Plenitude	53 (35,8%)	18 (12,2%)*
Eructação	94 (63,5%)	45 (31,1%)*

- $p < 0,001$. Alguns pacientes apresentavam mais de um dos sintomas

Tabela 3- Pacientes com pirose retroesternal pré e pós-erradicação do *H. pylori* e periodicidade do sintoma

PIROSE	PRÉ-ERRADICAÇÃO	PÓS-ERRADICAÇÃO
Assintomáticos	59 (39,9%)	100 (67,5%)*
Menos que 1x/semana	18 (12,1%)	15 (10,1%)*
Mais que 1x/semana	23 (15,5%)	6 (4,1%)*
Não quantificados	17 (11,4%)	20 (13,5%)*
Diariamente	31 (20,9%)	7 (4,7%)*

- $p < 0,001$

No exame de endoscopia digestiva alta que precedeu o tratamento para erradicação do *Helicobacter pylori* foram encontrados 20 (13,5%) pacientes com úlcera duodenal em atividade (A), 18 (12,1%) com

úlceras duodenais em fase de cicatrização (H) e 67 (45,2%) em fase final de cicatrização (S). Dos pacientes que tinham úlcera gástrica, 9 (6,1%) estavam em atividade, 5 (3,4%) em fase de cicatrização e 12 (8,1%) em fase final de cicatrização. Dezesesseis pacientes (10,7%) apresentavam úlcera gástrica e duodenal simultaneamente, sendo 2 fase A de Sakita (1,3%), 4 fase H de Sakita (2,7%) e 10 pacientes com fase S (6,8%).

O gene *cagA* do *Helicobacter pylori* nas biópsias do corpo foi positivo em 91 pacientes (61,5%). Em 74 foi possível determinar a genotipagem da citotoxina *vacA*, 17 eram apenas *cagA*⁺, e em 22 só o PCR para o gene que codifica antígeno espécie-específico era positivo. A genotipagem da citotoxina *vacA* mostrou a cepa s1bm1 positiva em 30 pacientes (20,2%), sendo em 26 *cagA*⁺ e 4 *cagA*⁻; a cepa s2m2 foi observada em 10 casos (6,8%) e em 3 (2,0%) s1bm2*cagA*⁺. Não foi possível definir a região do meio da citotoxina *vacA* em 20 (13,5%) casos s1b *cagA*⁺, 11 (7,4%) s1b⁺, 2 (1,3%) s1ac*cagA*⁺ e 1 s2*cagA*⁺. Não foi possível definir a região sinal da citotoxina *vacA* em 14 (9,4%) casos m1*cagA*⁺, 5 (3,4%) m2*cagA*⁺ e 2 (1,3%) m2. Cepas mistas da citotoxina *vacA* foram detectadas em cinco casos.

O gene *cagA* do *Helicobacter pylori* nas biópsias do antro foi positivo em 103 pacientes (69,6%), 20 (13,5%) eram apenas *cagA*⁺, e em 18 (12,1%) só o PCR para o gene que codifica antígeno espécie-específico era positivo. A genotipagem da citotoxina *vacA* mostrou a cepa s1bm1 positiva em 32 (21,6%) pacientes, 31 *cagA*⁺ e 1 *cagA*⁻; a cepa s2m2 foi observada em 7 casos (4,7%) sendo 4 (2,7%) s1bm2, 2 *cagA*⁺ e

2 *cagA*⁻, 1 (0,7%) *s1am1cagA*⁺, e 2 (1,3%) casos foram *s2m2 cagA*⁺. Não foi possível definir a região do meio da citotoxina *vacA* em 24 (16,2%) casos *s1b cagA*⁺, 9 (6,1%) *s1b*⁺, 1 (0,7%) *s1a cagA*⁺ e 1 *s2 cagA*⁺. Não foi possível definir a região sinal da citotoxina *vacA* em 10 (7%) casos *m1cagA*⁺, 4 (2,7%) *m2 cagA*⁺ e 2 (1,3%) *m2*. Cepas mistas da citotoxina *vacA* foram detectadas em 15 casos, vide Tabela 4 e 5.

No estudo, observamos que dos 148 pacientes, 28 pacientes (18,9%) apresentaram esofagite erosiva ao exame de endoscopia digestiva alta após um ano da erradicação do *H. pylori*, sendo 24 classificados como esofagite erosiva grau A e 4 como grau B de Los Angeles.

O índice de massa corpórea (IMC) dos 148 pacientes variou entre 16,1 e 38,1 entre a primeira e a consulta de um ano após.

Dezoito pacientes que apresentaram esofagite erosiva endoscópica (64,3% dos pacientes com esofagite) elevaram seu índice de massa corpórea para uma média de 24,2, sendo que os mesmos apresentavam média de 23,1 antes do tratamento (elevação diferencial de 1,1 no IMC). No mesmo grupo de pacientes com esofagite, 9 pacientes (32,1% dos pacientes com esofagite) evoluíram com redução do índice de massa corpórea, sendo a média de 25,8 antes do tratamento e 25,2 após o esquema terapêutico (redução diferencial de 0,60 no IMC). Apenas 1 paciente não teve seu índice de massa corpórea alterado (3,6% do grupo de esofagite). Tabela 7.

Quando analisamos os resultados do índice de massa corpórea dos 120 (81,1%) pacientes sem esofagite observamos que 83 pacientes obtiveram ganho do IMC (69,2%) com a média de 23,5 (pré-tratamento) aumentando para 24,1(pós-tratamento), sendo o ganho médio diferencial de 0,6. Neste mesmo grupo 33 pacientes tiveram queda do valor de IMC (27,5%) com médias de 27,3 (pré-erradicação) e 26,8 (pós-erradicação), sendo a média da queda diferencial 0,5. Quatro pacientes (3,3%) não alteraram o IMC após a erradicação do *H. pylori* no grupo sem esofagite. O estudo comparativo para significância estatística entre esses grupos de pacientes com e sem esofagite foi calculado e determinado em 0,083 no grupo com esofagite e de menor que 0,001 no grupo sem esofagite. Tabela 7.

No seguimento endoscópico de um ano após o tratamento do *H. pylori*, 28 (18,9%) dos pacientes evoluíram com esofagite: 24 (16,2%) com esofagite erosiva grau A de Los Angeles, 4 (2,7%) com esofagite erosiva grau B de Los Angeles. Dos 28 pacientes do grupo da esofagite erosiva apenas 3 desenvolveram hérnia hiatal (10,7% dos pacientes com esofagite), sendo todas de pequeno tamanho .

A genotipagem da cepa de *H. pylori* dos pacientes que evoluíram com esofagite erosiva grau A eram 15 *cagA*⁺ e 9 *cagA*⁻. Aqueles que evoluíram com esofagite grau B, 3 eram *cagA*⁺ e 1 *cagA*⁻. A análise estatística mostrou não haver correlação significativa entre a virulência da cepa (*cagA*⁺) e o grau de esofagite erosiva desenvolvido.

É importante descrever que dos 28 pacientes com esofagite erosiva, 16 (57%) eram do sexo masculino, sendo a faixa etária média total do grupo da esofagite 45,5 anos.

A diferenciação genotípica total do grupo de pacientes com esofagite erosiva e no grupo total de ulcerosos com relação a presença ou ausência das cepas *cagA*, após a análise estatística entre os grupos *cagA* positivos e negativos, com relação aos pacientes ulcerosos (grupo geral) e esofagite (com fragmentos de corpo e antro) não obtivemos um valor estatístico significativo (Tabela 4).

Tabela 4 - Genotipagem do gene *cagA* de cepas de *H. pylori* em biópsias gástricas do corpo e do antro no grupo total de ulcerosos (n=148), e nos pacientes que evoluíram com esofagite erosiva (n=28).

Grupos de pacientes	<i>cagA</i> +	<i>cagA</i> -	P	(<u>ulcerosos</u> X esofagite corpo e antro)
Ulcerosos (Corpo)	91 (61,5%)	57(38,5%)		
Ulcerosos (Antro)	103 (69,6%)	45 (30,4%)		
Esofagite A,B(Corpo)	18 (64,3%)	10 (35,7%)	P = 0,780	
Esofagite A,B(Antro)	21 (75%)	7 (25%)	P= 0,565	

Tabela 5- Genotipagem dos genes *cagA* e *vacA* de cepas de *H. pylori* em biópsias do corpo gástrico de pacientes com úlcera péptica (total de 148), e separadamente dos que evoluíram com esofagite erosiva pós erradicação (total de 28).

<i>vacA</i>	s2/m2	s1b/m2	s1b/m1	s1b/m-	mista	s-/m2	s-/m1
Corpo U	10/6,8%	3/2%	30/20,2%	31/20,9%	5/3,4%	7/4,7%	14/9,4%
Antro U	7/4,7%	4/2,7%	32/21,6%	33/22,3%	15/10,1%	6/4%	10/6,8%
Corpo E	2/7,1%	2/7,1%	4/14,3%	4/14,3%	1/3,6%	4/14,3%	1/3,5%
Antro E	1/3,5%	3/10,7%	6/21,4%	4/14,3%	4/14,3%	3/10,7%	0%

Tabela 5 : Corpo U, biópsias do corpo de pacientes ulcerosos; Antro U, biópsias do antro de pacientes ulcerosos; Corpo E, biópsias do corpo dos pacientes com esofagite; Antro E, biópsias do antro dos pacientes com esofagite; s⁻, não foi possível definir a seqüência sinal do *vacA*; m⁻, não foi possível definir a seqüência moduladora do *vacA*.

Tabela 6- Evolução dos sintomas em todos os pacientes (valor absoluto) em um ano de seguimento após erradicação do *H. pylori* - Grupos de pacientes com Esofagite e Úlcera péptica gastroduodenal.

Evolução	Dor*	Pirose	Náuseas	Vômitos	Plenitude	Eructação
Melhora	106/71,6%	69/46,6%	60/40,5%	56/37,8%	45/30,4%	75/50,7%
Estável	27/18,2%	52/35,1%	66/44,5%	73/49,3%	87/58,7%	53/35,8%
Piora	11/7,4%	23/15,5%	18/12,1%	15/10,1%	12/8,1%	16/10,8%
Assint.	4/2,7%	4/2,7%	4/2,7%	4/2,7%	4/2,7%	4/2,7%

* , Dor epigástrica; Assint., assintomático

Tabela 7- Variações médias no Índice de massa corpórea (IMC) antes e após a erradicação do *H. pylori* no grupo de pacientes com esofagite (n=28) e no grupo sem esofagite (n=120)

	<u>Ganho</u> de IMC	<u>Perda</u> de IMC	Inalterados	p
Pacientes <u>com</u> esofagite	18 (64,3%)	9 (32,1%)	1 (3,6%)	
	1,1 de média	0,60 de média		P= 0,083
Pacientes <u>sem</u> esofagite	83 (69,2%)	33 (27,3%)	4 (3,3%)	
	0,60 de média	0,50 de média		P < 0,001

5. DISCUSSÃO

Pouco ainda está estabelecido entre a presença de esofagite em pacientes erradicados pelo esquema do *Helicobacter pylori* e a cada ano surgem vários estudos procurando relacionar a sua patogenia com distúrbios da mucosa gástrica e esofágica.

Até o momento, não há um consenso universal sobre a fundamental importância na erradicação do *H. pylori* em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico sintomática ou assintomática ²⁶.

O conhecimento atual do seu mecanismo de ação na célula epitelial do estômago, através de fenômenos bioquímicos determinados pelo genoma bacteriano tem se mostrado cada vez mais evidente, principalmente na doença ulcerosa gastroduodenal (Correa P e Schmidt BA, 1995; Correa P, 2004) e em alguns tipos de neoplasias gástricas assim como adenocarcinoma, principalmente nas úlceras gástricas (Axon FTR, 1991) e linfoma tipo MALT (mucose associated lymphoid tissue) relacionado em estudo de 1997 com o *Helicobacter pylori* (Wotherspoon AC, 1997).

Mas nos falta substrato para poder julgar o paralelismo entre o *H. pylori* e seu fator protetor na DRGE, conseqüentemente influenciando na prevenção de suas complicações, como o esôfago de Barrett e o adenocarcinoma de esôfago.

Na literatura encontramos publicações que defendem o *H. pylori* como fator protetor para DRGE ³⁸. Outras nos mostram que o agente pode

até mesmo agravar a DRGE; e ainda há autores que concluem a ausência completa da relação entre o *H. pylori* e a DRGE ³⁹.

Nosso estudo analisou 148 pacientes do ambulatório da Gastroenterologia Clínica do HCFMUSP, sendo todos os pacientes portadores de úlcera péptica gástrica, duodenal ou gastroduodenal, sendo 100% dos casos *H. pylori* positivos em teste de urease (corpo e antro), teste respiratório com carbono 14(C¹⁴) e exame histológico com pesquisa de genotipagem de corpo e antro gástrico. Todos erradicados com o esquema anti-*H. pylori* por sete dias com amoxicilina, claritromicina (Queiroz et al, 2002) e omeprazol, devido a ao baixo custo, boa adesão e maior eficiência de tratamento conhecida hoje (Coelho et al, 2004).

Nosso intuito, nesse estudo, foi obter o maior índice de sensibilidade e especificidade possível associando os métodos de uréase, genotipagem e teste respiratório com carbono marcado (¹⁴C-ureia), sendo que este último quer pela sua acurácia quer pelo seu custo vem se mostrando cada vez mais viável desde publicações como de Desroches et al em 1997.

A maioria desses pacientes era do sexo feminino, e encontramos a predominância de casos de úlcera duodenal (71,6%) relacionados à presença do agente, e como veremos adiante, mais relacionados a esofagite (Moraes-Filho JP, 1974).

O tabagismo pode ser um fator para a agressão da barreira mucosa gástrica e relaxamento do esfíncter inferior do esôfago, favorecendo não somente o aparecimento da úlcera péptica gastroduodenal e como a

esofagite. Há ainda a interação entre o fumo e o *H. pylori* que favorecem de forma sinérgica à formação da úlcera. Parece que os fumantes têm maiores níveis séricos de pepsinogênio I que os não fumantes. Sendo ainda importante relacionar o tabagismo ao ritmo de vida sedentário, estresse, ansiedade e sono irregular, caracterizando a maioria do perfil do paciente tabagista em todo o mundo (Ching,1995).

Em nosso trabalho 49 pacientes eram tabagistas, no entanto somente 6 deste grupo desenvolveu esofagite erosiva endoscópica; ou seja, dos 28 pacientes que desenvolveram esofagite somente 6 consumiam tabaco (21,5%), não demonstrando relação direta entre esofagite e fumo após a erradicação do *Helicobacter pylori*.

Antes da erradicação, a pirose aparecia em 90 pacientes, sendo que a maioria deles era portadora de úlcera duodenal e 32 tinham o sintoma de forma regular e diária. Então, a grande maioria dos ulcerosos duodenais já apresentava pirose mesmo antes do início do tratamento e houve melhora significativa dos sintomas de DRGE após a terapêutica, sendo que 41 pacientes tornaram-se totalmente assintomáticos. Somente 26 pacientes que não tinham inicialmente a pirose, vieram a desenvolvê-la após a erradicação (17,5%); apenas três desses pacientes (2%) desenvolveram esofagite erosiva. Isso nos mostra que talvez a presença de sintoma de DGRE antes do tratamento não seja fator determinante ou agravante para o aparecimento da esofagite pós-erradicação do *H. pylori*.

Entre os sintomas inespecíficos a dor epigástrica e a eructação foram os mais freqüentes, no entanto tiveram significativa redução após a

erradicação do agente e um ano de acompanhamento ambulatorial. ($p < 0,001$), sendo que até o momento, nosso estudo prospectivo não observou retorno desses tipos de sintomas de forma significativa.

Há algumas décadas atrás se acreditava que o processo inflamatório da mucosa gástrica em pacientes com úlcera duodenal era restrito ao antro, no entanto a aceitação da gastrite de corpo sob condições de hipocloridria logo foi também aceita e associada ao aumento do risco de adenocarcinoma gástrico, principalmente naqueles pacientes onde a supressão ácida medicamentosa se faz por longo período (Kuipers et al, 1995). Não atentamos em nosso trabalho para caracterização histológica e quantificação do tipo de gastrite de corpo ou antro, no entanto nossos pacientes constituem um padrão de hipercloridria, já que 106 deles possuíam úlcera duodenal e 16 úlceras gástricas e duodenais simultaneamente; somente 26 tinham isoladamente úlcera gástrica.

Desta forma, a recomendação do Consenso de Maastricht determina erradicação para todos os pacientes submetidos a longo tempo de uso de drogas anti-secretoras ¹⁰ .

A cura do *H pylori* poderá determinar o aumento ou redução na acidez do conteúdo refluído para o esôfago e dependerá também da intensidade da gastrite principalmente na região de corpo gástrico (Graham DT e Yamaoka Y, 1998).

Consideramos aqui a DRGE como a presença de sintomas relacionados a essa doença ou quando há lesão endoscópica da mucosa do esôfago. Não foi a intenção do estudo a realização da pH-metria para o

diagnóstico definitivo da DRGE, por isso os pacientes com esofagite endoscópica, independentemente de ter ou não sintomas relacionados foram aqui incluídos.

Desde o final da década de 80 tem-se observado aumento da DRGE e do adenocarcinoma do esôfago em grupos populacionais onde há pouca infecção pelo *H. pylori*, o que estimulou uma importante publicação em 1999 (Blaser MJ, 1999), indicando o *H pylori* como fator protetor para a DRGE.

Encontramos 28 pacientes (18,9%) com esofagite erosiva endoscópica após a erradicação do *H. pylori* com o esquema tríplice, sendo que 24 tinham classificação grau A de Los Angeles, sendo que nenhum deles tinha esofagite endoscópica anteriormente; 57% eram do sexo masculino. Mas somente 26 pacientes dos 148 estudados apresentaram pirose após o tratamento e desses, apenas três evoluíram com esofagite endoscópica. Nenhum de nossos pacientes evoluiu com qualquer complicação da DRGE, como úlcera esofágica, estenose, esôfago de Barrett ou adenocarcinoma.

Houve 24 pacientes com esofagite erosiva grau A de Los Angeles e apenas quatro grau B; não observamos nenhum caso de grau C ou D, mostrando, em nossa casuística, que a erradicação também provavelmente não é agravante para a intensidade da esofagite endoscópica.

Mesmo assim, conforme Graham DY em 2003³⁴, para que haja DRGE após a erradicação do agente, o paciente deve apresentar algum

fator deficiente na barreira esofágica fisiológica anti-refluxo, como principalmente hérnia hiatal, alteração do IMC e disfunções no esfíncter inferior do esôfago; também deve haver aumento no potencial hidrogeniônico do conteúdo gástrico refluído.

Dos 28 pacientes com esofagite pós-erradicação apenas três desenvolveram hérnia hiatal, sendo todas por nós consideradas de pequeno tamanho, ou seja, menor que 3,0 centímetros e maior que 2,0 centímetros (Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva, 2000) ⁴⁴.

Sabemos que a elevação significativa do Índice de Massa Corpórea pode ser fator determinante para o surgimento ou piora dos sintomas de DRGE por interferir na barreira anti-refluxo e pelo aparecimento da hérnia hiatal. Dezoito pacientes (64,3%) dos 28 com esofagite, tiveram um discreto aumento (média de ganho diferencial de 1,1) do seu IMC e 9 deles reduziram o índice, também discretamente (média de queda diferencial de 0,60). Mas no grupo sem esofagite, 81,1% também elevaram seu IMC (média de ganho diferencial de 0,60) e 33 tiveram queda neste índice (média de perda diferencial de 0,50).

Estatisticamente não foi encontrada significância entre os grupos com esofagite e sim no grupo sem esofagite ($p < 0,001$). Portanto, para nós, esse fator (IMC) não justificaria o aparecimento da esofagite erosiva nos pacientes pós-erradicados.

Talvez possamos atribuir esses fatos a uma melhor qualidade de vida proporcionada a esses pacientes após a erradicação do agente e a importante melhora dos sintomas relacionados a DRGE ($p < 0,001$), e dos

sintomas inespecíficos ($p < 0,001$), resultando em discreto ganho ponderal para a maioria dos pacientes tratados, principalmente no grupo sem esofagite.

É notório o fato de que pacientes que possuem a ilha de patogenicidade *cagA* do *Helicobacter pylori*, apresentam maior risco de desenvolverem úlcera péptica e câncer gástrico e menor chance de evoluírem para DRGE e suas complicações. Talvez, uma das explicações para esses fatos seria o estímulo à produção de Interleucina-8 (Ekstrom et al, 2001), IL-1Beta (El-Omar et al, 2000), IL-10 (Di Giovine et al, 2000) pela mucosa gástrica e interferindo na resposta imune do hospedeiro, bem como no grau da inflamação³². É importante ressaltar que a citotoxina *vacA* também age como drogas imunossupressoras, inibindo a proliferação de células T¹⁸.

Encontramos 91 amostras de corpo gástrico com gene *cagA* positivo e 74 com a citotoxina *vacA* presentes. A cepa s1bm1 da *vacA* foi a mais freqüente aparecendo em 30 pacientes; no entanto deste grupo de 30, 26 eram *cagA* positivos. Em antro tivemos 103 amostras *cagA* positivas e somente 32 com a cepa da citotoxina vacuolizante *vacA*; as mais freqüentes foram s1bm1 (32 casos), mas 31 também tinham o gene *cag* presente. Como na literatura, as cepas consideradas mistas não tiveram uma expressão significativa em ambos grupos (corpo e antro).

Ao analisar amostras de corpo e antro, entre a predominância do gene *cagA*, entre os pacientes que desenvolveram esofagite após o tratamento, não obtivemos um “p” significativo estatisticamente, o que nos

indica apesar da predominância desse gene em todos os grupos(ulcerosos com e sem esofagite), não encontramos efeito protetor ou indutor dessas cepas para a esofagite erosiva em nossos pacientes.

Artigo publicado em 2000, por Mattar R e Laudanna AA, também chegou a uma maior porcentagem de genótipos mais patogênicos como sendo s1b/m1/*cagA*, quando associados com maior frequência a úlcera duodenal, após triados pelo CLOtest (urease) e genotipados pelo método PCR (Polymerase Chain Reaction). As cepas com menor virulência parecem ser do genótipo s2/m2 e também menos freqüentes como em nosso atual estudo; as cepas mistas ou múltiplas têm atualmente sido subestimadas pelo motivo das genotipagens terem sido realizadas a partir de culturas de *H. pylori*.

No mesmo ano, em 2000, Fallone et al procurou relacionar genotipagens do *H. pylori* com pacientes que tinham DRGE. Ainda em 2000, Vaezi et al observou que pacientes *cagA* positivos tinham menor chance de desenvolverem esôfago de Barrett. Em nosso estudo, observou-se uma predominância das cepas gene *cagA* positivas em relação as cepas *cagA* negativas. Quando analisamos os genótipos *cagA* percebemos que não há variação estatística entre fragmentos colhidos do corpo e do antro. E ainda, ao compararmos o grupo de ulcerosos com o grupo que desenvolveu esofagite, mesmo ao separarmos a análise de fragmentos de corpo e antro, o significado estatístico também não é relevante.

Desta forma, para nosso grupo não fica muito bem estabelecido considerar o gene *cagA* como fator relacionado a DRGE, sintomas e esofagite erosiva após o esquema triplice de erradicação para o *Helicobacter pylori*.

A maioria das cepas vacuolizantes encontradas (s1b/m1) foram associadas com a proteína *cagA* e apesar de seu potencial patogênico para o epitélio da mucosa gástrica, parece também não influenciar quanto a fisiopatologia da DRGE e sua principal complicação que é a esofagite.

Em menor número, encontramos as cepas s2/m2, mas também em sua maioria associadas ao *cagA*, assim como na literatura determinando pouco potencial patogênico em nosso meio, mesmo em pacientes portadores de úlcera duodenal. Quando estas ratificadas em amostras de corpo e antro, não denota potencial lesivo ou preventivo para a formação da esofagite erosiva endoscópica.

6. CONCLUSÃO

Concluimos então nosso trabalho identificando o aparecimento da esofagite erosiva endoscópica em 28 pacientes (18,9%) que receberam o esquema de erradicação para o *Helicobacter pylori*, sendo que todos os sintomas específicos de DRGE ou inespecíficos foram efetivamente melhorados após os sete dias de tratamento.

Não houve relação entre a erradicação e a pior intensidade da esofagite endoscópica, sendo que a maioria dos pacientes desenvolveu grau leve de esofagite erosiva.

As cepas vacuolizantes s1b/m1 e o gene associado a citotoxina A (*cagA*⁺) foram as mais freqüentes significativamente tanto em amostras de corpo quanto de antro, mas não tiveram influência na determinação ou proteção da esofagite, mesmo quando separamos as amostras de corpo e antro gástrico.

Houve discreto aumento médio do IMC nos dois grupos, mas só tivemos resultado significativo no grupo sem esofagite, mostrando que este não é determinante para a etiologia da esofagite após a erradicação do *H. pylori*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **Lancet** 1984; 1: 1311-5.
2. Goodwin CS, Blincow ED, Warren JR, Waters TE, Sanderson CR, Easton L. Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. **J Clin Pathol** 1985; 38: 1127-31.
3. Goodwin CS, Armstrong T, Chilvers M, Peters MD, Collins L, Sly W, McConnet. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustalae* to gen. nov. as *Helicobacter pylori*. **Int J Syst Bacteriol** 1989; 39: 397-405.
4. Fox JG, Correa P, Taylor NS, Lee A, Otto G, Murphy JC, Rose R. *Helicobacter mustalae* associated gastritis in ferrets: an animal model of *H. Pylori* gastritis in humans. **Gastroenterol** 1990; 99: 352-61.
5. Labigne A, Cussac V, Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. **J Bacteriol** 1991; 173: 1920-31.

6. Dunn EB, Grutter MG. *Helicobacter pylori* springs another surprise. **Nat Struct Biol** 2001; 8: 480-2.
7. The report of the International Update Conference on *Helicobacter pylori* by the American Digestive Health Initiative. **Gastroenterology** 1997 113(Suppl 6): 54-8.
8. McColl, Kel, El-Omer. Interactions between *Helicobacter pylori*, gastric acid and secretory therapy. **Br. Med. Bull** 1998; 54:121-6.
9. Smoot, DT. How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage ? Direct mechanisms. **Gastroenterology** 1997; 113:531-3.
10. Malfertheiner, P, Megraud, F, O'Morain, C . Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht 2-2000 Consensus". **Report Aliment Pharmacol Therapy** 2002; 16:167-70.
11. Zaterka S, Chinzon D, Eisig JN, Iriya K, Rodriguez TN, Boyd HK, Sandowski E, Laudanna AA. Reinfection by *H. Pylori* in a developing country. A five years follow up study (abst.). **Am J gastroenterology** 1995; 90(9): 1596.

12. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G; The European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPSG). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. **The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-80.**

13. Valle J, Kekki M, Sipporen P. Long term and consequences of helicobacter pylori gastritis, result of 32-year follow-up study. ***Scand Journal of Gastroenterol* 1996; 31:546-8.**

14. Labenz J, Blum AL, Bayerdorffer E, Meining A, Stolt M, Borch G. Curing *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcer may provoke reflux esophagitis. ***Gastroenterology* 1997; 112:1442-7.**

15. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*. ***Am. J. Gastroenterol* 1994; 89: S116.**

16. Gebert B, Fischer W, Weiss E, Hoffmann R, Haas R. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. ***Science* 2003; 301: 1099-102.**

17. Martin D Gough, Roger A, Nijel C. Bird. Prediction of malignant potencial in reflux didease: Are Cytokine polimorphisms important? **Am. J. Gastroenterology**, 2005; 1012-8.
18. Kidd M, Lastovica AJ, Atherton JC, Louw JA. Conservation of the *cag* pathogenicity island is associated with *vacA* alleles and gastroduodenal disease in South African *Helicpbacter pylori* isolates. **Gut** 2001; 49:11-7.
19. Atherton JC, Cao P, Peek RM, Tummuru MKR, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicpbacter pylori*. **J Biol Chem** 1995; 270:17771-7.
20. Van Doorn LJ, Figueiredo C, Megraud S, Pena S, Midolo P, Queiroz DMM, Carneiro F, Vanderborgth B, Pegado MGF, Sanna R, de Bôer W, Schneeberger PM, Correa P, Enders DW, Atherton J, Blaser MJ, Quint WGV. Geographic distribution of VacA allelic types of *Helicobacter pylori* **Gastroenterol** 1999; 116:823-30.
21. Ikenoue T, Maeda S, Ogura K, Akaguma M, Mitsuno Y, Yoshida H, Shiratori Y, Omata M. Determination of *Helicpbacter pylori* virulence by Simple Gene analysis of a *cag* pathogenicity island. **Clin Diagn lab Immunol** 2001; 8:181-6.

22. Atherton JC, Peek KMJ, Thom KT, Cover TL, Blaser MJ . Clinical and importance pathological of heterogeneity in VacA, the vacuolating cytotoxin gene of *helicobacter pylori*. **Gastroenterol** 1997; 112: 92-9.
23. Yamaoka Y, Knon DH, Graham DY . 34,000 proinflammatory outer membrane protein(oipA) of *helicobacter pylori*. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2000; 20; 97: 7533-8.
24. Warburton UJ . The significance of CagA with *helicobacter pylori* in reflux oesophagitis. **Timms** 2001; 49: 341-6.
25. Mattar R, Silva FM, Alexandrino AM, Laudanna AA. Validation of 14 C- Urea Breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori*. **Rev Inst Med Trop S Paulo** 1999; 41(1): 3-8.
26. Moraes-Filho JPP, Cecconello I, Gama-Rodrigues JJ. Brazilian consensus on gastroesophageal reflux disease: proposals for assessment, classification and management. **Am J Gastroenterology** 2002; 97:241-8.
27. Moss SF, Armstrong D, Arnold R, Ferenci P. GERD 2003, a consensus of the way ahead. **Digestion** 2003; 67: 111-7.

28. Niemantsverdriet E, Timmer R, Brum R, Smout JPM. The roles of excessive gastro-oesophageal reflux, disordered oesophageal motility and decreased mucosal sensitivity in the pathogenesis of Barrett's oesophagus. **Eur J Gastroenterol Hepatol** 1997; 9: 515-9.
29. Peitz V, Wex T, Gebert, Vieth M, Roessner A, Hoffmann W, Malfertheiner P. TFF3 expression at the esophagogastric junction is increased in gastroesophageal reflux disease (GERD). **Peptides** 2004;25(5): 771-7.
30. Hirschowitz BI. Gastric acid and pepsin secretion in patients with Barrett's oesophagus and appropriate controls. **Dig Dis Sci** 1996; 41: 1384-91.
31. Feldman M, Cryer B, Sammer D, Lee E, Spechler SJ. Influence of H. pylori infection on meal-stimulated gastric acid secretion and gastroesophageal acid reflux. **American Journal of Physiology** 1999; 277(6 Pt 1):G1159-64.

32. Rad R, Dossumbekova A, Neu B, Lang R, Bauer S, Saur D, Gerhard M, Prinz C. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection. **Gut** 2004; 53:1082-9.
33. Graham Dy, Yamada Y .Disease specif of *Helicobacter pylori* virulence factors: The unfulfilled promise. **Helicobacter** 2000; 5(suppl. 1): S3-9.
34. Graham DY. The chaning epidemiology of GERD geography and *Helicobacter pylori* . **Helicobacter** 2003;7:14-22.
35. Richter JE, Vicar JJ, Peek RM .The seroprevalence of CagA positive in *Helicobacter pylori* in the spectrum of gastroesophageal reflux disease . **Gastroenterology** 1998; 115(1): 50-7.
36. Holtmann G, Cain C, Malfertheiner P. Gastric *Helicobacter pylori* infection accelerates healing of reflux esophagitis during treatment with the proton pump inhibitor pantoprazole. **Gastroenterology** 1999; 117(1):11-6.

37. Varanasi RV, Fantry GT, Wilson KT . Decreased prevalence of *Helicobacter pylori* infection in gastroesophageal reflux disease. **Helicobacter** 1998; 3(3): 188-94.
38. Raghunath AS, Hungin AP, Wooff D. Systematic review: The effect of *Helicobacter pylori* and its eradication on gastro-oesophageal reflux disease in patients with duodenal ulcers or reflux oesophagitis. **Aliment Pharmac & Therapeutics** 2004; 20(7): 733-44.
39. Zentilin P, Iritano E, Vignale C, Bilardi C, Savarino V. *Helicobacter pylori* infection is not involved in the pathogenesis of either erosive or non-erosive gastro-oesophageal reflux disease. **Aliment Pharmacol & Therapeutic** 2003; 17(8): 1057-64.
40. Guillen D, McColl KEL. *Helicobacter pylori* eradication associated with effect of long acid secretion producted. **Gastroenterology** 2004; 125: 980-8.
41. Mincis M. Doença do Refluxo Gastroesofágico e suas complicações. In: Moyses Mincis. **Gastroenterologia & Hepatologia, diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Lemos Editorial; 1997:261-7.

42. Lundell L. Long term treatment of GERD with omeprazole. **Scand J Gastroenterol** 1994; 201: 74-8.
43. Sakita T. Endoscopy in diagnosis of early ulcer cancer. **Clin Gastroenterol** 1973; 2: 350-1.
44. Magalhães AF, Montes CG. Doença do Refluxo Gastroesofágico **SOBED** (Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva) 2000; Médici editora médica, 3ª edição- Rio de Janeiro; 333-42.
45. Marshall BJ, Plankey MW, Hoffmann SR, Boyd CL, Dye KR, Frierson HF, Guerrant RL, McCallum RW. A 20-minute breath test for *Helicobacter pylori*. **Am J Gastroenterol** 1991; 86:438-45.
46. Correa P, Schmidt BA. The relationship between gastric cancer and the ratio of gastric to duodenal ulcer. **Aliment Pharmacol Ther** 1995; 9(suppl. 2): 13-9.
47. Correa P. The future of gastric carcinoma prevention. **Gastric Cancer** 2004; 7: 9-16.
48. Axon, FTR. *Helicobacter pylori*: Effects on peptic ulcer disease". **J. Gastroenterol Hepatology**, 1991; 6:131.

49. Wotherspoon AC. Gastric MALT Lymphoma and *Helicobacter pylori*. **Yale J Bio Med** 1997; 69: 61-8.
50. Queiroz DMM, Dani, R, Silva LD, Factors associated with treatment failure of *Helicobacter pylori* infection in a developing country. **J Clin Gastroenterol**, 2002; 305- 15.
51. Coelho, LGV, Castro LP & Gonçalves . Úlcera gastroduodenal. **Rev Gastroenterol Rio de Janeiro**, 2004; 34-42.
52. Desroches JJ, Lahaie RG, Picard M. Methodological validation and clinical usefulness of carbon-14-urea breath test for documentation of a presence and eradication of *Helicobacter pylori* infection. **J Nucl Med** 1997;38: 1141-5.
53. Moraes-Filho JP. Lack of specificity of the acid perfusion test in duodenal ulcer patients. **Am J Dig Dis** 1974; 19:785-90.
54. Ching CK, Lam SK . Peptic ulcer disease. Epidemiology, pathogenesis and etiology. **JE Bockus Gastroenterology** 1995(1); 700-48.

55. Kuipers EJ, Uytterlinde AM, Pena AS. Increase of *Helicobacter pylori* associated corpus gastritis during acid suppressive therapy: Implications for long term safety. **Am J Gastroenterol** 1995; 90:1401-6.
56. Graham DY, Yamaoka Y. *H. Pylori* and *cagA*: Relationships with gastric cancer, duodenal ulcer, and reflux esophagitis and its complications. **Helicobacter** 1998; 3: 145-51.
57. Blaser MJ. Hypothesis: The changing relationships of *Helicobacter pylori* and humans: Implications for health and disease. **J Infect Dis** 1999; 179:1523-30.
58. Ekstroom AM, Held M, Hansson LE, Engstrand L, Nyren O. *Helicobacter pylori* in gastric cancer established by *CagA* immunoblot as a marker of past infection. **Gastroenterol** 2001; 121: 784-91.
59. El-Omar, EM, Carrington M, Chow WH. Interleukines and polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. **Nature**, 2000; 404:398:402.

60. Di Giovine FS, Cox A, Chandhaay A. Detection and population analysis of IL-1 and TNF gene polymorphisms. Balkwill F, ed. **Cytokine Molecular Biology- Approach** –New edition. **Oxford university Press**, Oxford, UK.2000;21:46.
61. Mattar R, Laudanna AA. *Helicobacter pylori* genotyping from positive clonests in patients with duodenal ulcer. **Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo** 2000; 55(5):155-60.
62. Fallone CA, Barkun AN, Gottke MU, Best LM, Loo VG, Veldhuyzen Van Zanten S. Association of *Helicobacter pylori* genotype with gastroesophageal reflux disease and other upper gastrointestinal diseases. **Am J Gastroenterol** 2000; 95:659-69.
63. Vaezi MF, Falk GW, Peek RM, Vicari JJ, Goldblum JR, Perez-Perez GI. *cagA* positive strains of *Helicobacter pylori* may protect against Barrett's esophagus. **Am J Gastroenterol** 2000; 95:2206-11.