



Ana Lúcia Carvalho da Fonseca

## Estômago, ambiente estéril? Não — *Helicobacter pylori*

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Olga Maria A. R. C. Cardoso e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Lúcia Carvalho da Fonseca

# Estômago, ambiente estéril? Não — *Helicobacter pylori*

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,  
orientada pela Professora Doutora Olga Maria A. R. C. Cardoso e apresentada à Faculdade de  
Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

*Eu, Ana Lúcia Carvalho da Fonseca, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010133738, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.*

*Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.*

*Coimbra, 10 de julho de 2015.*

---

## **A Tutora**

---

(Professora Doutora Olga Maria A. R. C. Cardoso)

## **A Aluna**

---

(Ana Lúcia Carvalho da Fonseca)

## Agradecimentos

Não poderia deixar de fazer um agradecimento à Professora Doutora Olga Cardoso pela orientação, disponibilidade e transmissão de conhecimentos que em muito contribuíram para a concretização desta monografia.

Por fim, um agradecimento muito especial aos meus pais, ao meu irmão e a todos os amigos, em especial à Joana, por todo o incentivo e apoio incondicional concedido ao longo destes cinco anos de formação académica.

## Índice

Abreviaturas.....	5
Resumo .....	6
Abstract .....	6
1. Introdução.....	7
2. O estômago .....	8
3. Caracterização microbiológica de <i>Helicobacter pylori</i> .....	9
4. Epidemiologia, transmissão e fontes de infecção .....	10
5. Mecanismo de patogênese de <i>Helicobacter pylori</i> .....	11
6. Patologias associadas a <i>Helicobacter pylori</i> .....	14
6.1. Patologias gastrointestinais .....	14
6.2. Patologias não gastrointestinais .....	16
7. Métodos de diagnóstico.....	17
8. Tratamento: presente e futuro .....	19
8.1. Resistências bacterianas aos antibióticos.....	19
8.2. Terapêutica antimicrobiana: os vários esquemas terapêuticos.....	21
8.2.1. Primeira linha de tratamento: .....	22
8.2.1.1. Em regiões com BAIXA resistência à claritromicina.....	22
8.2.1.2. Em regiões com ELEVADA resistência à claritromicina.....	23
8.2.2. Segunda linha de tratamento.....	24
8.2.2.1. Em regiões com BAIXA e ELEVADA resistência à claritromicina .....	24
8.2.3. Terceira linha de tratamento .....	24
8.3. Terapêutica adjuvante .....	25
8.4. A vacinação.....	27
9. Conclusão.....	28
10. Referências bibliográficas.....	29

## Abreviaturas

<b>BabA</b>	<i>Blood group antigen-binding adhesion</i>
<b>CagA</b>	<i>Cytotoxin-associated antigen</i>
<b>CagA PAI</b>	<i>Cytotoxin-associated genes pathogenicity island</i>
<b><sup>13</sup>C UBT</b>	Teste respiratório de ureia
<b>DNA</b>	<i>Deoxyribonucleic acid</i> ou ácido desoxirribonucleico
<b>ELISA</b>	<i>Enzyme-Linked Immune Assay</i>
<b>EMA</b>	<i>European Medicines Agency</i>
<b>HdpA</b>	D-peptidase A
<b>HSPs</b>	<i>Heat shock protein</i>
<b>IARC</b>	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
<b>IL</b>	Interleucina
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraquidiano
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeo
<b>MALT</b>	<i>Mucosa associated lymphoid tissue</i> ou linfoma associado a tecido linfóide da mucosa
<b>MDRI</b>	<i>Multi-Drug Resistance Gene</i>
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>OipA</b>	<i>Outer inflammatory protein</i> ou proteína inflamatória externa
<b>OMP</b>	<i>Outer membrane protein</i> ou proteína de membrana externa
<b>PCR</b>	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
<b>p.e.</b>	por exemplo
<b>PMN</b>	Polimorfonucleares
<b>PPI</b>	<i>Proton Pump Inhibitors</i> ou inibidores da bomba de prótons
<b>RNA</b>	<i>Ribonucleic acid</i> ou ácido ribonucleico
<b>RT-PCR</b>	<i>Real time-Polymerase Chain Reaction</i>
<b>RUT</b>	Teste rápido da urease
<b>SabA</b>	<i>Sialic acid-binding adhesion</i>
<b>TFF1</b>	<i>Trefoil factor 1</i>
<b>TNF -<math>\alpha</math></b>	<i>Tumor necrosis factor alfa</i> ou fator de necrose tumoral alfa
<b>T4SS</b>	<i>Type IV secretion system</i>
<b>UreB</b>	<i>Urease subunit beta</i>
<b>Urel</b>	Proteína transportadora de ureia
<b>VacA</b>	<i>Vacuolating toxin-A</i>
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i>

## Resumo

Durante muitos anos, o estômago era considerado um ambiente estéril. Com o desenvolvimento da ciência e tecnologia, o conhecimento sobre este importante órgão foi sendo desvendado, percebendo-se que o seu ambiente afinal não é estéril. *Helicobacter pylori* tem a capacidade de crescer e desenvolver-se no ambiente ácido do estômago, provocando um conjunto de patologias gástricas, como gastrite crônica, úlcera péptica, linfoma associado a tecido linfóide da mucosa e cancro gástrico.

Epidemiologicamente, *H. pylori* tem uma distribuição mundial, mas uma maior prevalência nos países em desenvolvimento. Para além da falta de recursos destes países, o aumento de resistências a antibióticos por parte de *H. pylori* e o complexo esquema de tratamento são problemas sociais aos quais devemos estar atentos. Devido à sua localização no corpo humano e à adesão às células epiteliais do estômago, o *H. pylori* é erradicado com inibidores da bomba de prótons e antibióticos, aos quais se pode adicionar os probióticos no sentido de reduzir os efeitos indesejáveis.

Nesta monografia, o estômago é caracterizado enquanto habitat deste microrganismo e o mecanismo de patogénese do *H. pylori* é descrito. Falar-se-á ainda das patologias associadas e dos possíveis esquemas terapêuticos a utilizar na erradicação desta bactéria.

## Abstract

For many years, the stomach was considered a sterile environment. With the development of science and technology, the knowledge on this important organ increased and it was disclosed that microorganisms are able to grow and proliferate in its environment. *Helicobacter pylori* is one of these microorganisms, growing in acidic environment of the stomach and inducing gastric pathologies, such as chronic gastritis, peptic ulcer disease, mucosa associated lymphoid tissue (MALT) and gastric cancer.

In terms of epidemiology, *H. pylori* has a worldwide distribution but a higher prevalence in the developing countries. In addition to the lack of resources in these countries, the increase in antibiotic resistances and the complex treatment, are problems that need attention. Since *H. pylori* is located in the stomach in humans and it adheres to its epithelial cells, the treatment is based on proton pump inhibitors and antibiotics, adding probiotics to reduce side effects.

In this work, we characterize the environment of the stomach as *H. pylori* habitat, describe its pathogenesis mechanisms and associated pathologies, as well as discuss the currently used treatments to eliminate this bacterium.

## I. Introdução

O estômago humano é uma extraordinária barreira contra os microrganismos que são ingeridos [1]. Durante muito tempo pensou-se que devido às suas características (p.e. baixo pH) era um ambiente estéril, incapaz de manter vivo qualquer microrganismo. No entanto, em 1983 Barry Marshall e Robin Warren [2, 3] demonstraram que tal não era verdade. Eles conseguiram isolar, a partir do estômago humano, uma espécie bacteriana em espiral que mais tarde veio a ser conhecida como *Helicobacter pylori*. Este conhecimento teve um grande impacto e serviu de estímulo a muita pesquisa que mostrou haver relação entre a colonização gástrica por *H. pylori* e uma variedade de distúrbios gastrointestinais como gastrite crônica, úlcera péptica, linfoma associado a tecido linfóide da mucosa (MALT) e cancro gástrico. Esta descoberta valeu-lhes em 2005 o Prémio Nobel da Fisiologia ou Medicina [4].

Atualmente, o *H. pylori* é considerado um agente etiológico comum em todo o Mundo infectando aproximadamente 50% de toda a população, incluindo crianças e adultos, e é um importante fator de risco para patologias gástricas, tendo mesmo sido classificado, em 1994 como carcinogénico de classe I pela *Internacional Agency for Research on Cancer (IARC, WHO)*[1, 5].

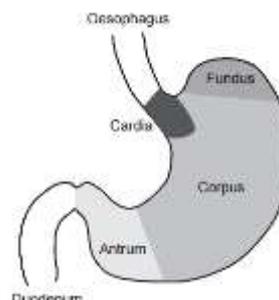
A prevalência de *H. pylori* é bastante variável, estando esta relacionada com as diferentes áreas geográficas e com as condições socioeconómicas; quanto à forma de transmissão esta ainda não é bem definida.

A colonização gástrica por *H. pylori* não é uma doença e é muitas vezes assintomática. No entanto, é uma condição que aumenta o risco de desenvolver várias doenças ao longo do trato digestivo, como referido anteriormente [4]. A suscetibilidade e gravidade destas doenças resultam duma complexa combinação entre fatores do hospedeiro, ambientais e bacterianos [5].

Perceber o mecanismo de patogénese deste microrganismo, as patologias, as formas de diagnóstico e o tratamento de erradicação do *H. pylori* é o objetivo deste trabalho.

## 2. O estômago

O estômago corresponde ao segmento dilatado localizado na parte superior esquerda do abdômen e é parte integrante do sistema digestivo do Homem. Para além de participar de forma ativa no processo de digestão dos alimentos, ele representa uma importante barreira aos microrganismos que são ingeridos, inativando bactérias, vírus, fungos ou parasitas evitando que estes cheguem ao intestino. Isto só é possível porque o estômago está provido de suco gástrico, um complexo fluido composto por ácido clorídrico e enzimas proteolíticas, as pepsinas. A secreção do ácido gástrico é um processo dinâmico, que em algumas condições pode levar a hipocloridria (pH entre 4 e 7) ou mesmo a acloridria (pH 7), e por consequência a um aumento da suscetibilidade a infeções. Este ácido para além de um papel importante na inibição do crescimento bacteriano no estômago influencia a composição da microflora intestinal [1].



**Figura 1** – Ilustração do lúmen do estômago. Adaptado de Yang, I., et al., 2013.

Histologicamente, o estômago divide-se em quatro regiões: cardia, fundo, corpo e antro (Figura 1). Cada uma das regiões caracteriza-se por ter uma linha de células secretoras diferenciadas. O fundo e corpo compreendem cerca de 80% de toda a mucosa gástrica, e caracterizam-se por apresentarem células parietais, secretoras de ácido gástrico, células mucosas, produtoras de muco e células principais ou zimogénicas, produtoras de pepsinogénio. O antro caracteriza-se pela presença de células G, produtoras de gastrina e pelas células endócrinas, responsáveis pela produção de hormonas reguladoras. As células produtoras de muco recobrem toda a superfície gástrica, as restantes células organizam-se em invaginações ao longo do epitélio, designadas glândulas oxínticas na região do corpo e fundo ou como glândulas pilóricas no antro [1, 6].

A revestir o epitélio gastrointestinal existe uma camada de muco viscoso que tem como principal função separar e proteger o epitélio do lúmen, servindo também como lubrificante e barreira física. As mucinas são as principais proteínas do muco gástrico sendo a MUC1 associada à membrana e as MUC5AC e MUC6 segregadas sob a forma de gel. Para além das mucinas, o muco, principalmente o intestinal, é rico em peptídeos antimicrobianos como defensinas e catelicidinas. Estas são úteis na defesa contra bactérias comensais e patogénicas. As catelicidinas em especial são expressas em muito maior número durante a infeção, inflamação e cicatrização de feridas, tendo sido demonstrado em estudos que

ocorre um aumento significativo da expressão da catelicidina humana quando o epitélio gastrointestinal humano é infetado [1].

Em suma, o estômago é detentor de um conjunto de características capazes de o tornar um ambiente hostil ao desenvolvimento de vida. No entanto, há alguns microrganismos comensais e outros patogénicos, como *H. pylori*, que são capazes de se adaptar às suas condições, sobreviver e colonizar o Homem [1].

### 3. Caracterização microbiológica de *Helicobacter pylori*

O género *Helicobacter* pertence ao domínio *Bacteria*, filo *Proteobacteria*, à ordem *Campylobacterales*, à família *Helicobacteraceae* [4]. O género *Helicobacter* consiste em pelo menos 24 espécies conhecidas no trato gastrointestinal de animais e Homem [7]. Muitas delas são patogénicas para o Homem, como *H. pylori*, *H. fennelliae* e *H. cinaedi* [8]. Os membros do género *Helicobacter* são todos organismos microaerofílicos, e a maioria são catalase e oxidase positiva, no entanto nem todas as espécies são urease positiva [4].

*H. pylori* apresenta um genoma com aproximadamente 1,7 Mbp, com um conteúdo de Guanina (G) e Citosina (C) de 35 a 40% e cerca de 1587 genes [4]. Ao contrário de outras bactérias patogénicas, *H. pylori* é geneticamente heterogéneo, o que indica uma elevada capacidade adaptativa da bactéria ao ambiente gástrico e aos diferentes padrões de resposta mediada pelo hospedeiro [4].

*H. pylori* é um bacilo em forma de espiral, microaerofílico, de Gram negativo e flagelado. Apesar de se apresentar normalmente sob a forma de espiral, este pode ter a forma de haste, ou quando sujeito a cultura *in vitro* ou longa exposição a antibióticos pode apresentar forma cocóide. Em relação aos flagelos, trata-se de uma bactéria unipolar com 2 a 6 flagelos com cerca de 3 µm de comprimento. Estes fornecem ao *H. pylori* a capacidade de se movimentar rapidamente em soluções viscosas, como o muco que cobre o lúmen do estômago [4, 8].

Sendo *H. pylori* uma bactéria microaerófila, ela requer condições de oxigénio, dióxido de carbono, humidade, temperatura e pH ideais para crescer. Assim, ela apresenta um crescimento ótimo em níveis de O<sub>2</sub> de 2 a 5%, de CO<sub>2</sub> de 5 a 10%, em condições de humidade elevada e a 37 °C. Em relação ao pH, ainda que o seu *habitat* seja um meio ácido, *H. pylori* é considerado um neutrófilo, pois apesar de sobreviver quando exposto a pH inferior a 4, ele apresenta um crescimento ótimo a pH neutro [4].

*H. pylori* é um organismo fastidioso que requer um complexo meio para crescer, sendo este muitas vezes suplementado com sangue ou soro. Para isolamento e cultura é

comum utilizar um meio sólido, que consiste no meio de agar Columbia ou Brucella com adição de sangue de cavalo ou ovelha. De modo a melhorar a especificidade do isolamento, os meios podem ser suplementados com uma mistura de antibióticos seletivos (p.e. vancomicina, trimetoprim, polimixina B e anfotericina B) para fazer isolamento primário ou para culturas [4]. Ainda assim fazer o isolamento desta bactéria a partir de amostras obtidas por biópsia gástrica é difícil e nem sempre bem-sucedido. As colónias são muitas vezes pequenas e translúcidas podendo ser observadas entre o terceiro e décimo quarto dia [4]. A identificação positiva de *H. pylori* é baseada nestas características e nas reações positivas à catalase, oxidase e urease [9].

#### 4. Epidemiologia, transmissão e fontes de infeção

Estima-se que *H. pylori* colonize perto de 50% da população mundial, apresentando no entanto uma prevalência muito variável entre diferentes áreas geográficas [4, 10].

Em países em desenvolvimento, como por exemplo algumas regiões do Leste da Ásia e alguns locais da América Latina, mais de 80% da população é *H. pylori* positivo. Esta infeção ocorre muito numa fase muito precoce da vida, geralmente ainda em crianças, de tal forma que a população é infetada por norma antes dos 20 anos [4, 10]. Em contraste, quando falamos de países industrializados ou desenvolvidos, como por exemplo a França, os Estados Unidos da América ou a Austrália, a prevalência de infeção por *H. pylori* é baixa em crianças como menos de 10 anos, aumentando para quase 40% em adultos entre os 30 e 40 anos [4, 10]. Em Portugal, a prevalência da infeção por *H. pylori* é de 84,2% para adultos, 66,2% para adolescentes e 31,6% para crianças [11].

Em suma, a prevalência de infeção por *H. pylori* em países em desenvolvimento mantém-se constante e está a diminuir nos países industrializados. Esta diminuição pensa-se estar associada a melhores condições de higiene, saneamento e ativa erradicação das bactérias com recurso a antibióticos [4].

A forma como ocorre a transmissão de *H. pylori* não é ainda bem conhecida. Até à data não se conhece nenhuma outra fonte de infeção que não a humana. No entanto, ainda que ocasionalmente tenha sido isolado em animais de companhia, não existe evidência de transmissão zoonótica [4] e a transmissão por via sanguínea parece improvável [2]. Desta forma a identificação da cavidade oral como sendo o único ponto de entrada de *H. pylori* faz suspeitar que as novas infeções correm por transmissão direta Homem-Homem, seja por via oral-oral ou oral-fecal ou ambas, com ou sem intermediários neste processo [4].

Existem estudos que demonstram a existência de *H. pylori* na saliva, em vômitos, refluxo gástrico e em fezes, contudo não há evidências conclusivas sobre a transmissão por estes produtos biológicos [4]. Outros estudos demonstraram também a existência de DNA bacteriano em águas “ambientais”, que podem resultar da contaminação com DNA livre ou organismos mortos de *H. pylori*. Outra possível fonte de contaminação são os alimentos refrigerados onde, ainda que por um breve período de tempo, *H. pylori* tem capacidade de sobreviver. No entanto, tendo em conta as características destes microrganismos a transmissão direta pessoa-pessoa parece ser a via de transmissão preferencial [4].

## 5. Mecanismo de patogénese de *Helicobacter pylori*

O mecanismo de patogenicidade de *H. pylori* não é bem entendido, uma vez que só alguns dos indivíduos infetados desenvolvem problemas gástricos graves [5]. Sabe-se no entanto que suscetibilidade e gravidade das doenças que resultam desta infeção decorrem de uma combinação complexa entre fatores do hospedeiro, ambientais e bacterianos [12].

A condição do hospedeiro é um fator importante, seja pela existência de antecedentes genéticos, pelo estado fisiológico ou pelo estado imunitário, que pode aumentar ou diminuir a resposta à infeção. A própria bactéria tem também a capacidade de se adaptar às condições do hospedeiro, modular a resposta do sistema imunitário e ainda produzir vários fatores de virulência [5]. O tabagismo, a dieta, o consumo de elevados teores de sal e o consumo de carne [2] são fatores externos que podem influenciar negativamente o curso da infeção.

O mecanismo que causa doença em humanos pode ser descrito como um processo com várias etapas [5]. Desta forma, a infeção por *H. pylori* inicia-se com a colonização da mucosa gástrica, com evasão da resposta imunitária do hospedeiro e a produção de citotoxinas pela bactéria [7], seguida de adaptação e multiplicação da bactéria na mucosa gástrica [5].

A adesão à mucosa e a motilidade da bactéria são essenciais no desenvolvimento da infeção [5]. Sabe-se também que a maioria da população bacteriana ocupa a camada de muco e apenas 1 a 20% da população bacteriana se liga firmemente à superfície apical das células via proteínas de ligação à superfície, como as adesinas, que reconhecem polissacarídeos que são expressos à superfície das células epiteliais e camada de muco, e via modificação de proteínas da membrana celular e do citoesqueleto [5, 7, 13].

A urease e flagelina são dois fatores determinantes na colonização da mucosa gástrica. A urease é a enzima responsável pela hidrólise da ureia gástrica em dióxido de

carbono e amônia, contribuindo assim para a elevação do pH exterior para um pH neutro. Esta hidrólise pode ocorrer no interior da bactéria, sendo a entrada de ureia mediada pela proteína transportadora de ureia (Urel), ou no exterior pela urease existente na superfície da célula. Esta elevação do pH cria um ambiente favorável à bactéria, protegendo-a do ácido gástrico e reduzindo a viscosidade do muco, permitindo que o *H. pylori* através dos seus flagelos, constituídos por duas subunidades de flagelina, se movimente mais facilmente [5, 7].

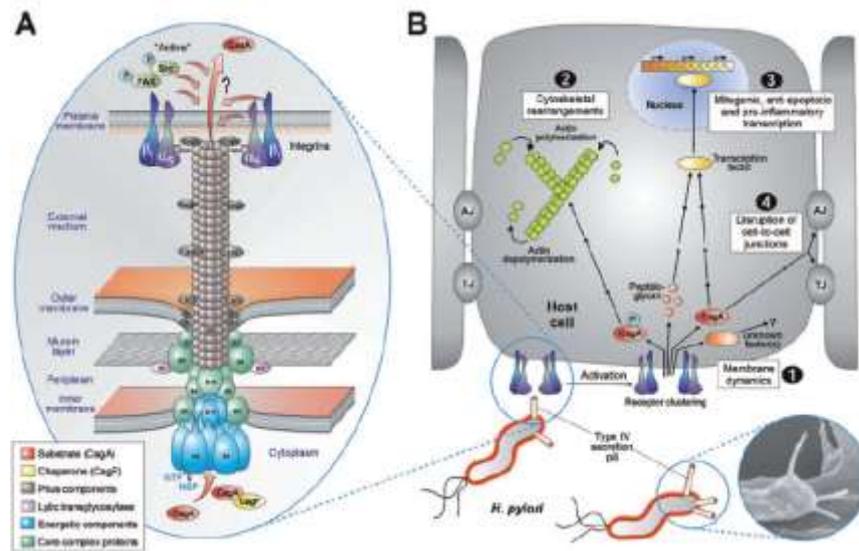
A D-peptidase A (HdpA) é também uma proteína importante na morfologia da bactéria, estando demonstrado que uma mutação nesta proteína induz uma forma anormal e reduz a viabilidade da colonização [5].

O sistema imunitário do hospedeiro é outra barreira que esta bactéria precisa de transpor para conseguir colonizar a mucosa. Tal como as bactérias de Gram negativo *H. pylori* possui como constituinte da parede celular lipopolissacarídeos (LPS), responsáveis por induzir uma forte resposta inflamatória por parte do hospedeiro. No entanto, algumas modificações no lípido A dos LPS diminuem a sua endotoxicidade, quando comparada com outras bactérias de Gram negativo. Estes LPS mostram capacidade de se ligar à proteína TFF1, rica em cisteínas, que se encontra na mucosa gástrica promovendo a colonização [7]. Ao colonizar a mucosa gástrica, o *H. pylori* reduz também a produção de *heat shock protein* (HSPs). Uma vez que as HSPs são capazes de modular tanto a resposta imunitária inata como adaptativa, esta redução contribui para uma evasão ao sistema imunitário contribuindo assim para uma colonização a longo termo [7].

No DNA bacteriano, uma sequência de 40 kb de DNA que codifica genes responsáveis pela virulência associados à inflamação da mucosa, denominados *cag* PAI (*cytotoxin-associated genes pathogenicity island*), permite a classificação das bactérias em duas estirpes, as Cag-positivas e as Cag-negativas [5, 10, 14]. É no conjunto de genes *cag* PAI que estão codificadas proteínas como a Cag A (*cytotoxin-associated antigen*), a VacA (*vacuolating toxin-A*), a BabA (*blood group antigen-binding adhesin*), a OipA (*outer inflammatory protein*) e os componentes do T4SS (*type IV secretion system*)[10].

A BabA é uma das proteínas de membrana externa (OMP) expressa por *H. pylori* associada ao aumento de risco de carcinoma gástrico, que reconhece e liga ao recetor fucosilado Lewis b, expresso nas células epiteliais. Já a SabA (*sialic acid-binding adhesin*), também uma OMP, medeia a adesão da bactéria à mucosa gástrica através da sua ligação aos recetores “sialyl-Lewis<sup>x</sup>” [5, 7]. Outra OMP que medeia a ligação é a OipA, uma proteína capaz de ativar a sinalização intracelular levando à libertação de citocinas pro-inflamatórias [7, 10].

O T4SS representa um grande grupo de transportadores que está presente em muitas bactérias de Gram negativo e que permite a formação de pili. (Figura 2) Este medeia a injeção de fatores de virulência, como a oncoproteína CagA no interior da célula do hospedeiro, estando este mecanismo particularmente bem descrito para esta proteína. À superfície do T4SS existem duas proteínas – CagL e CagF – determinantes no processo de translocação dos fatores de virulência para as células do hospedeiro. A CagL é uma adesina que se liga à célula do hospedeiro e ativa integrinas para a posterior entrega da CagA. A CagF é uma *chaperone-like protein* crucial na translocação de CagA para o interior da célula do hospedeiro [14].



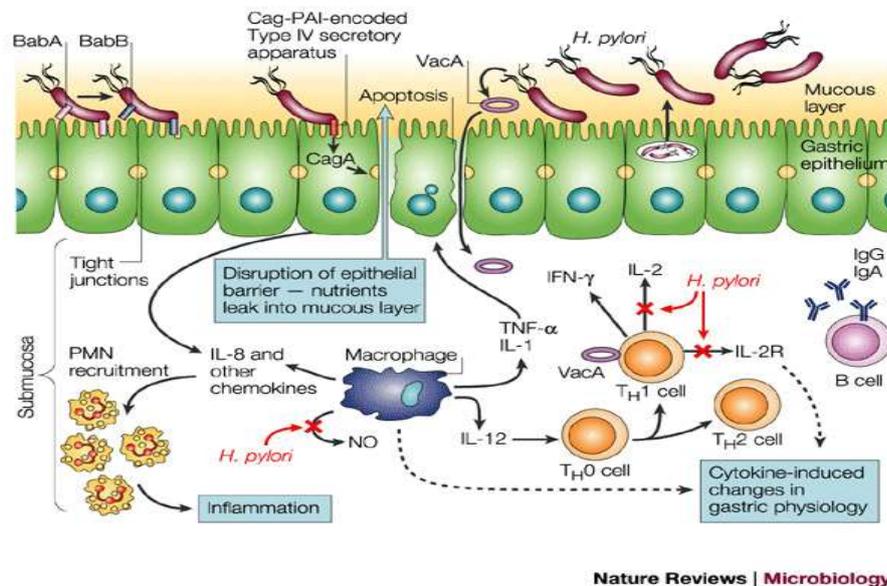
**Figura 2** – Representação esquemática do transportador T4SS (A) e sua interação com a célula epitelial (B). Adaptado de Backert, S. and M. Selbach (2008).

Numa primeira fase, após a entrada da CagA (Figura 3) na célula hospedeira, ocorre a produção de interleucina 8 (IL-8) e outras quimiocinas, que levam ao recrutamento de células polimorfonucleares (PMN) ao local, o que se traduz no desenvolvimento de inflamação. A Cag A vai ter também como alvo as “tight junctions” e a longo prazo esta proteína pode conduzir a alterações da morfologia e mesmo à rotura das células epiteliais, levando ao extravasamento de nutrientes e à entrada de VacA na submucosa. A VacA, para além de induzir a formação de vacúolos, é capaz de induzir a paragem do ciclo celular em fase G1 e de aumentar apoptose das células epiteliais por ativação da via apoptótica mitocondrial. Também a apoptose mediada por TNF- $\alpha$  (Fator de Necrose Tumoral-alfa) conduz à rutura da célula epitelial [5, 10, 15].

Numa fase crónica da infeção provocada por *H. pylori* estabelece-se uma relação entre a resposta imunitária inata e adaptativa através da ativação de linfócitos T auxiliares

(T<sub>h</sub>1) por citocinas produzidas por macrófagos, como a IL-12 [15]. Estas vão também alterar a secreção de muco, contribuindo para a perturbação induzida por *H. pylori* na mucosa. O *H. pylori* tem ainda a capacidade de modular a resposta imunitária do hospedeiro, alterando a produção de óxido nítrico (NO) por parte dos macrófagos. A proteína VacA interfere com a produção de IL-2 por parte dos linfócitos T, e por conseguinte na sua ativação, bloqueando a transcrição de genes que codificam esta citocina e o seu recetor (IL-2R) [15, 16].

Para além de interferir e modular com a resposta imunitária, a infeção por *H. pylori* está também associada a alterações genéticas. A mais prevalente traduz-se na metilação de DNA nas células do hospedeiro, levando à inativação de determinados genes, incluindo a p53, uma proteína com atividade supressora tumoral, crítica na prevenção de mutações genéticas. Tal efeito poderá ser um dos responsáveis pelo desenvolvimento de carcinomas gástricos associados a *H. pylori* [5, 10].



**Figura 3** – Representação esquemática do mecanismo de patogênese do *H.pylori*. Adaptado de Monack, D.M., et al., (2004).

## 6. Patologias associadas a *Helicobacter pylori*

### 6.1. Patologias gastrointestinais

A colonização por *H. pylori* não é uma doença! No entanto, é uma condição que aumenta o risco de vir a desenvolver doenças gastrointestinais graves [4]. De tal forma que, no mundo moderno a infeção por este microrganismo contribui em grande escala para a morbidade e mortalidade associada a úlcera péptica, MALT e, mais grave ainda, adenocarcinoma gástrico [14].

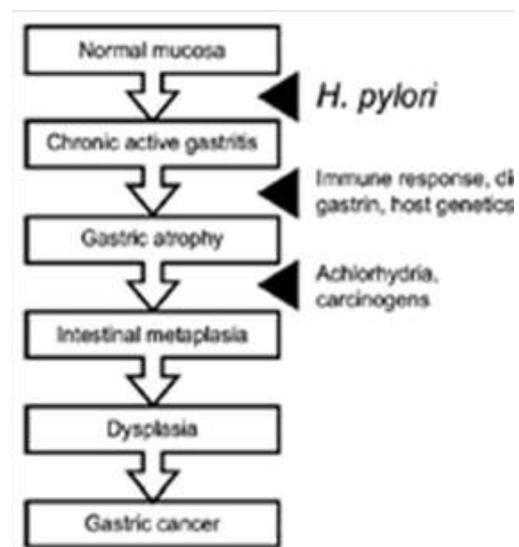
Estima-se que aproximadamente 10 a 20% dos indivíduos *H. pylori*-positivos têm risco de desenvolver úlcera gástrica, 1 a 3% têm risco de desenvolver cancro gástrico e 0,1% de desenvolver MALT [4, 5]. De referir ainda que indivíduos infetados com *H. pylori* têm duas vezes mais risco de desenvolver cancro gástrico quando comparados com pessoas não infetadas [5].

A relação que existe entre a infeção por *H. pylori* e a ocorrência de carcinoma gástrico parece ser um exemplo de desenvolvimento de cancro resultante de uma infeção microbiana e inflamação crónica [10]. Assim, este cancro tem uma evolução lenta, que se inicia com a infeção pelo microrganismo progredindo depois para uma gastrite crónica ativa, que ocorre em todos os colonizados, e que sob a influência de fatores ambientais pode evoluir para gastrite atrófica e metaplasia intestinal. Em alguns indivíduos, o epitélio metaplásico é submetido a outras alterações genómicas e fenotípicas, resultando em displasia gástrica e, por último, em carcinoma. Em 1988, Correa propôs uma cascata que em vários passos ilustra este processo (Figura 4) [4, 10].

Como referido anteriormente, vários fatores são determinantes na evolução da infeção por *H. pylori*, em particular os fatores de virulência que a bactéria produz. De tal forma que, bactérias que pertencem a estirpes produtoras de CagA e VacA (CagA-positivas) estão por norma mais relacionadas com o

desenvolvimento de úlcera péptica, atrofia gástrica e adenocarcinoma gástrico do que as bactérias que não produzem estes fatores de virulência [14].

O desenvolvimento de gastrite crónica ativa é a primeira condição que decorre da colonização com *H. pylori*, as restantes patologias resultam do um processo de inflamação crónica induzido por este microrganismo [4]. Em relação a esta primeira fase de gastrite crónica ativa não existe muita informação, uma vez que na maioria dos casos a condição é assintomática. No entanto, alguns estudos realizados com voluntários mostram que a fase aguda pode estar relacionada com sintomas não específicos de dispepsia e hipocloridria. A dispepsia é definida como a existência de dor epigástrica, sensação de queimadura,



**Figura 4** – Modelo de representação do processo de carcinogénese com envolvimento de *H. pylori*. Adaptado de Kusters, J.G., et al., (2006).

enfartamento pós-prandial ou antes, podendo ou não estar associado náuseas e inchaço abdominal [10].

Após esta fase, em alguns casos as bactérias são eliminadas, eliminando a infecção, noutros casos a infecção pode evoluir para situações mais graves.

Quando a colonização se torna persistente, existe uma estreita relação entre o nível de secreção de ácido gástrico e distribuição da gastrite. Em indivíduos que segregam ácido de forma normal, *H. pylori* coloniza preferencialmente o antro gástrico, onde há poucas células parietais a produzir ácido gástrico. Quando há uma diminuição da secreção gástrica, seja por perda de células parietais como acontece na gastrite atrófica ou por ação de fármacos que inibem a atividade destas células, a distribuição dos microrganismos é mais uniforme, afetando o antro e corpo do estômago [4]. A inflamação crônica que este microrganismo induz pode levar à perda da arquitetura da mucosa gástrica, inclusive à destruição das glândulas e substituição por tecido fibroso e epitélio do tipo intestinal. Este processo de gastrite atrófica e metaplasia intestinal ocorrem em cerca 50% dos indivíduos colonizados com esta bactéria nos locais onde a inflamação é mais grave. Assim, nos indivíduos que têm diminuição da produção de ácido há uma progressão mais rápida no sentido da atrofia gástrica. Em áreas onde existe a perda de glândulas e metaplasia intestinal há um aumento do risco de desenvolvimento de cancro gástrico [4].

## 6.2. Patologias não gastrointestinais

*H. pylori* para além de estar associado a um conjunto de patologias gastrointestinais está também associado a uma variedade de doenças não gastrointestinais. Estas incluem doença coronária, doenças dermatológicas, como a rosácea e a urticária idiopática, doença autoimune da tiroide, púrpura, anemia por deficiência de ferro, fenómeno de Raynaud's, esclerodermia, enxaqueca e doenças neurológicas, como a síndrome de Guillain-Barré [4]. Os mecanismos hipotéticos que podem explicar a associação entre este microrganismo e estas patologias prendem-se com uma crónica e lenta ativação da cascata de coagulação, uma aceleração da aterosclerose e o mimetismo antigénico entre *H. pylori* e os epítopes do hospedeiro que levam a doenças autoimunes [4].

A síndrome de Guillain-Barré é uma neuropatia autoimune inflamatória aguda que pode ser precedida e desencadeada por uma infecção bacteriana ou viral. Pensa-se que um mimetismo entre os epítopes do hospedeiro e os antigénios presentes no *H. pylori* possa estar na origem das sequelas observadas nesta síndrome. Estudos mostraram que a presença de IgG anti-*H. pylori* em doentes com esta síndrome era superior relativamente aos controlos. Além disso, foram encontradas no líquido cefalorraquidiano (LCR) de doentes

com esta síndrome IgG específicas para a VacA, assim como homologia entre a proteína VacA e subunidade A da ATPase humana. Tal sugere que os anticorpos para a VacA ligam nos canais iônicos das células de Schwann, resultando na desmielinização dos neurónios motores destes doentes [16].

## 7. Métodos de diagnóstico

Os métodos utilizados na detecção de *H. pylori* no estômago do Homem são variados, todos eles apresentam algumas vantagens, desvantagens e limitações. A escolha dos diferentes métodos depende de diversos fatores, como a disponibilidade do método, a necessidade de realizar endoscopia, as vantagens e desvantagens que cada método apresenta e ainda a idade do doente [9].

Os métodos de diagnóstico são classificados em invasivos ou não invasivos, de acordo com a necessidade ou não de realizar uma endoscopia para obter a amostra a analisar. Desta forma, dentro dos testes invasivos temos a avaliação histológica, a cultura, os métodos moleculares, como a PCR (*polymerase chain reaction*), e o teste rápido da urease (RUT); dentro dos não invasivos temos o teste respiratório de ureia (<sup>13</sup>C UBT), a serologia e a pesquisa de antígenos fecais [9, 17].

A endoscopia é um método invasivo que é utilizado para identificar a infecção por *H. pylori* e as lesões associadas quando há dispepsia não explicada e recorrente em doentes considerados de maior risco, p. e. em pessoas com mais de 45 anos, com anemia, evidência de hemorragia, vômitos, perda de peso e história de úlcera anterior. Este método permite a realização de um RUT, a análise histológica e obter amostras para cultura [10, 17, 18]. O teste “*gold standard*” no diagnóstico da gastrite por *H. pylori* é a histologia, no entanto alguns fatores podem afetar a exatidão da histopatologia, como p. e. a toma de inibidores da bomba de prótons (PPI) [17], a experiência do analista e a densidade de colonização [9]. O RUT é um teste rápido e barato com uma precisão de detecção superior a 90%, podendo ver sua precisão reduzida em caso de úlcera hemorrágica [17]. Também a toma recente de antibióticos, bismuto ou PPI são limitações a este teste, uma vez que podem induzir falsos-negativos. Ainda assim, um resultado positivo é suficiente para iniciar o tratamento [9, 17]. A cultura é o teste mais específico para a detecção de *H. pylori* apesar de não ser o método de diagnóstico mais usado por rotina [9]. A cultura tem a vantagem de permitir realizar testes de suscetibilidade aos antibióticos, sendo recomendado pelas linhas orientadoras que se efetue quando a resistência à claritromicina naquela área geográfica, em específico, é superior a 20%, ou quando ocorre a primeira falha de erradicação antes de ser introduzido

tratamento de segunda linha. A cultura é ainda o melhor método para detecção de *H. pylori* em doentes com úlcera péptica hemorrágica [17, 18]. O isolamento de *H. pylori* pode ser exigente e demorado, pelo que os métodos moleculares, nomeadamente a PCR e a RT-PCR, apresentam aqui vantagem, pois através da análise das amostras clínicas é possível detetar a presença do microrganismo e mutações que conferem resistência aos antibióticos, em especial a macrólidos e fluoroquinolonas. A PCR é também utilizada em estudos para genotipagem e identificação de resistências, a partir de amostras fecais [17].

Os testes não invasivos são recomendados para doentes com dispepsia persistente, com mais de 45 anos e sem condição alarmante (p.e. anemia, evidência de hemorragia) [10]. O <sup>13</sup>C UBT é um teste prático e fiável, com uma sensibilidade de 94% e especificidade de 95%, útil para estudos epidemiológicos e essencialmente para avaliar a eficácia dos tratamentos de erradicação [10, 17]. Este é um teste que se revelou exato para o diagnóstico de infeção em pacientes com o estômago intacto, mas com menos sensibilidade e especificidade em doentes submetidos a gastrectomia. Também em crianças, a precisão é mais reduzida [17]. O teste de antigénios fecais apresenta uma sensibilidade e especificidade de 91% e 93%, respetivamente [10]. Este usa anticorpos monoclonais ou policlonais para detetar antigénios contra *H. pylori* em amostras fecais, tendo já sido demonstrado que uso de anticorpos monoclonais, num ensaio do tipo ELISA, tem maior precisão tanto no diagnóstico de uma infeção ativa como para confirmar a efetividade do tratamento [9, 18]. No entanto, este teste pode ver os seus resultados afetados por distúrbios do trato gastrointestinal, tratamento com PPI, como pela presença de úlcera hemorrágica [9]. O teste serológico é um método não invasivo comumente utilizado no diagnóstico da infeção por *H. pylori*, que usa método de ELISA para detetar IgG. Trata-se de um método barato e acessível, que tem a vantagem de não ver os seus resultados afetados pela recente toma de antibióticos ou PPI, ou pela presença úlcera hemorrágica ou atrofia gástrica. Contudo, a presença prolongada de anticorpos no hospedeiro mesmo após a erradicação da infeção, limita a sua utilização na avaliação da efetividade do tratamento. Este método tem ainda a vantagem de poder ser utilizado para detetar a bactéria ou apenas algumas proteínas específicas como os fatores de virulência CagA e VacA [9, 18]. A serologia, em conjunto com a determinação da razão entre o pepsinogénio I e II no soro constitui um método não invasivo capaz de detetar condições pré-malignas [18].

Em síntese, e de acordo com as linhas orientadoras Europeias, a determinação de antigénios nas fezes e o <sup>13</sup>C UBT são os únicos testes não invasivos recomendados para a detecção e monitorização do sucesso ou falha na erradicação de *H. pylori* [9, 18].

## 8. Tratamento: presente e futuro

Os antibióticos são os fármacos utilizados para a erradicação de *H. pylori*. No entanto, esta infecção em particular representa um desafio terapêutico único. O *habitat* deste microrganismo não é um local de fácil acesso para alguns fármacos, deste modo determinar a terapêutica ótima, que é muito dependente da concentração de antibiótico no estômago, é uma tarefa árdua. O primeiro obstáculo para os fármacos é o pH do lúmen gástrico, que no Homem ronda o 1,4 durante as 24 horas do dia. Esta acidez do meio afeta a biodisponibilidade dos antibióticos. Desta forma a associação dos antibióticos com um PPI, que aumenta o pH do meio, contribui em grande escala para o sucesso da erradicação. Outro obstáculo à erradicação deste microrganismo é a estrutura do muco gástrico. Para que a erradicação tenha sucesso é necessário que o fármaco seja distribuído por toda a superfície do estômago e que penetre através do muco para a superfície epitelial ou vice-versa, de forma a eliminar todas as bactérias independentemente do local onde se encontrem [19].

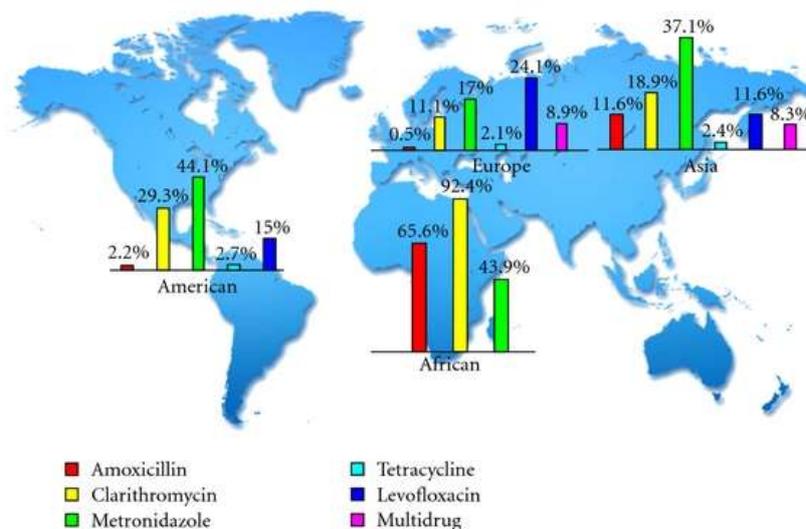
Para além destas limitações também a crescente resistência aos antibióticos tem limitado a capacidade destes de debelarem a infecção provocada por esta bactéria [19]. Não existindo um antibiótico único capaz de tratar a infecção pelo *H. pylori*, existe sim um conjunto de possíveis esquemas de tratamento que incluem vários antibióticos e PPI, com diferentes níveis de eficácia de erradicação e tolerabilidade [9].

Em suma, vários fatores podem estar na origem da falha do tratamento, começando pela não adesão do doente à terapêutica, pela elevada acidez gástrica, pela elevada carga bacteriana e pelas resistências desenvolvidas pela bactéria aos antibióticos [18, 19].

### 8.1. Resistências bacterianas aos antibióticos

As resistências bacterianas são um problema sério de saúde pública, pelo risco que representam para a humanidade. *H. pylori* não é exceção, e também este bacilo adquiriu resistência a diferentes antibióticos, o que representa uma enorme limitação à sua erradicação.

Em 2010, numa análise à escala global das taxas de resistências de *H. pylori* aos diferentes antibióticos concluiu-se que a taxa de resistência à claritromicina é de 17,2%, ao metronidazol é de 26,7%, à amoxicilina é de 11,2%, à levofloxacina é de 16,2%, às tetraciclina é de 5,9%, à rifabutina é de 1,4% e a várias associações de antibióticos é de 9,6% [20]. No entanto, a forma como as resistências aos diferentes antibióticos estão distribuídas a nível mundial não é homogênea, variando entre as diferentes regiões geográficas (Figura 5), o que poderá ser explicado pela diferente utilização de antibióticos nas várias regiões [19].



**Figura 5** – Representação das resistências aos antibióticos a nível mundial. *Adaptado de Wu, W., et al., (2012)*

Em particular, a resistência de *H. pylori* à claritromicina e ao metronidazol representa um obstáculo à sua erradicação, uma vez que estes são fármacos de primeira escolha para o tratamento da infeção. Observou-se nos últimos anos um aumento bastante acentuado da prevalência da resistência à claritromicina na Europa, em particular na Europa Central, Este e Oeste, que poder-se-á dever ao uso generalizado de macrólidos, p. e. no tratamento de infeções respiratórias, ao contrário do que acontece nos países do Norte da Europa que fazem um uso mais racional destes [20]. O aumento da resistência ao metronidazol poderá estar relacionado com o uso generalizado de imidazóis, p.e. nos países em desenvolvimento, uma vez que o metronidazol foi bastante utilizado no tratamento de doenças parasitárias. Já nos países industrializados, o aumento da resistência a este antibiótico poderá estar associado ao uso de nitro-imidazóis no tratamento de infeções ginecológicas.

Entre géneros observam-se também diferentes taxas de resistência bacteriana, sendo estas superiores nas mulheres [11, 21]. Para além destas possíveis explicações, fatores relacionados com a bactéria, como mutações cromossómicas pontuais podem estar na origem da resistência [19].

Em Portugal, as taxas de resistência primária de *H. pylori* são elevadas, em particular, para a claritromicina (39,4%), metronidazol (33,3%) e levofloxacina (26,3%), sendo muito rara a resistência à amoxicilina e às tetraciclina [11]. Esta informação é importante para a escolha na escolha do esquema terapêutico mais efetivo, pois uma tentativa de erradicação fracassada pode condicionar o tratamento seguinte, já que em Portugal as

opções são mais limitadas, uma vez que fármacos como o bismuto, as tetraciclina, a furazolidona e a rifabutina não estão disponíveis ou não podem ser utilizados [11].

## 8.2. Terapêutica antimicrobiana: os vários esquemas terapêuticos

A terapêutica usada para eliminar a infecção por *H. pylori* deve ser escolhida tendo em conta vários fatores, como a prevalência da infecção, do cancro gástrico e das resistências conhecidas da bactéria em determinadas regiões geográficas, os custos da terapêutica assim como sua disponibilidade, alergias do doente e intolerâncias; devendo ainda ser tido em conta os tratamentos prévios e os seus resultados, assim como as doses e duração do tratamento.

A terapêutica atual passa muitas vezes pela associação de um PPI e dois ou mais antibióticos, de forma a maximizar a eficácia da terapêutica.

Os PPI têm um papel crucial na erradicação deste microrganismo e são transversais a praticamente todos os esquemas terapêuticos utilizados. Eles são responsáveis pela inibição da bomba ácida (enzima H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase) da célula parietal, contribuindo para um aumento da estabilidade dos antibióticos lábeis em meio ácido, o que se traduz no aumento da concentração de fármaco e numa maior sensibilidade de *H. pylori* [10]. Mesmo assim, a ação destes pode ser comprometida devido a polimorfismos do citocromo (CYP) 450 2C19 e MDRI, que devem ser tidos em conta [9]. Ainda que os PPI sejam determinantes no sucesso da terapêutica, um tratamento prolongado com estes não é recomendado em casos de úlceras duodenais não complicadas, podendo no entanto ser útil em casos de úlcera gástrica ou úlcera duodenal complicada [18].

Os antibacterianos como as tetraciclina (inibidores da subunidade 30S do ribossoma bacteriano), a amoxicilina (inibidor da síntese da parede bacteriana e ativador do seu sistema autolítico endógeno), os imidazoles (inibidores da síntese de DNA e responsáveis pela degradação do DNA) como o metronidazol e tinidazol, alguns macrólidos (inibidores da síntese proteica, por ligação à subunidade 50S do ribossoma) em particular a claritromicina e, em alguns casos, a azitromicina são os fármacos mais utilizados na erradicação de *H. pylori* [4]. O bismuto é também outro composto muito utilizado na tentativa de erradicação desta bactéria. No entanto o seu mecanismo de ação não é conhecido, mas tem demonstrado bons resultados tanto *in vitro* como *in vivo* [4]. Atualmente não existe no mercado uma formulação comercializada deste composto. Outros dois antibióticos que têm sido utilizados: a rifabutina que interage com a subunidade  $\beta$  da RNA polimerase bacteriana inibindo a

síntese do RNA dependente do DNA bacteriano e a furazolidona [4], fármaco que demonstrou utilidade na erradicação deste microrganismo nos anos 90. No entanto, dados alarmantes levaram a IARC a classificar a furazolidona como carcinogénico de grau 3, não sendo autorizado pela *European Medicines Agency* (EMA) o seu uso em humanos e animais [22].

Com a crescente resistência aos antibióticos, em particular à claritromicina e metronidazol, e sem o surgimento de novos medicamentos no mercado indicados para a erradicação de *H. pylori*, existe a necessidade de tentar contornar esta realidade recorrendo a diferentes regimes com diferentes combinações de fármacos [18, 19].

## 8.2.1. Primeira linha de tratamento:

### 8.2.1.1. Em regiões com BAIXA resistência à claritromicina

Para regiões com baixa resistência à claritromicina (sendo as resistências locais inferiores a 20%), a terapêutica tripla apresenta-se como a primeira linha de tratamento. Esta é considerada o tratamento padrão para *H. pylori* que se julgue suscetível à claritromicina [19].

A terapêutica tripla (Tabela 1) é composta por um PPI (lansoprazol, omeprasol, pantoprazol, rabeprazol ou esomeprasol), claritromicina e amoxicilina durante 7 a 14 dias (tabela 1). Para pessoas com alergia a penicilinas, o metronidazol apresenta-se como opção de substituição da amoxicilina [9].

**Tabela 1** – Esquema terapêutico de 1ª linha para regiões com baixa resistência à claritromicina.

Fármacos	Dose (mg)	Intervalos de tomas (horas)
Inibidor da bomba de prótons		
• Lansoprazol	30	12
• Omeprasol	20	12
• Pantoprazol	40	12
• Rabeprazol	20	12
• Esomeprasol	40	24
Claritromicina	500	12
Amoxicilina	1000	12

Os valores apresentados aplicam-se a indivíduos adultos. *Adaptado de Garza-González, et al. (2014) e Wu, W., et al., (2012).*

### 8.2.1.2. Em regiões com ELEVADA resistência à claritromicina

No caso de regiões com elevada resistência à claritromicina, existem quatro possíveis esquemas terapêuticos utilizados para erradicação da bactéria (Tabela 2).

**Tabela 2** – Possíveis esquemas terapêuticos de 1ª linha em regiões com elevadas resistências à claritromicina.

Terapêutica	Fase	Fármacos	Dose (mg)	Intervalo (horas)	Duração
Sequencial	1ª	PPI* Amoxicilina	* 1000	* 12	5 dias
	2ª	PPI* Tinidazol Claritromicina	* 500 500	* 12 12	5 dias
Quadrupla		PPI* Subsalicilato de bismuto Metronidazol Tetraciclina	* 525 250 500	* 6 6 6	10 a 14 dias
Concomitante		PPI* Metronidazol Claritromicina Amoxicilina	* 500 500 1000	* 12 12 12	7 a 10 dias
Híbrida	1ª	PPI* Amoxicilina	* 1000	* 12	7 dias
	2ª	PPI* Metronidazol Claritromicina Amoxicilina	* 500 500 1000	* 12 12 12	7 dias

Nota: \* pode ser utilizado qualquer um dos PPI apresentados na tabela 1, com o intervalo de tomas e dose lá mencionado. Os valores apresentados aplicam-se a indivíduos adultos.

Adaptado de Garza-González, et al. (2014) e Wu, W., et al., (2012).

- A terapêutica sequencial que envolve a combinação de PPI com amoxicilina durante 5 dias, seguido de PPI mais tinidazol e claritromicina ou metronidazol durante 5 dias. Este regime tem como objetivo superar a resistência à claritromicina. Assim o tratamento com amoxicilina que é feito durante os primeiros 5 dias vai interferir na síntese da parede bacteriana e enfraquece-la permitindo depois a entrada da claritromicina. Deste modo na segunda fase o tratamento é feito com claritromicina e um nitro-imidazol durante 5 dias [10].
- A terapêutica quadrupla que inclui PPI, subsalicilato de bismuto e dois antibióticos, metronidazol e tetraciclina durante 10 a 14 dias [9].

- A terapêutica concomitante que é normalmente utilizada em substituição da terapêutica sequencial em áreas cuja resistência à claritromicina é superior a 20% e a terapêutica quadrupla não é viável, como é o caso de Portugal onde não é comercializado o salicilato de bismuto. Esta terapêutica envolve 3 antibióticos, metronidazol, claritromicina e amoxicilina, e um PPI durante 10 dias [9].
- A terapêutica híbrida que consiste num primeiro tratamento com PPI e amoxicilina durante 7 dias seguido por um tratamento com PPI, amoxicilina, metronidazol, e claritromicina durante 7 dias [9].

## 8.2.2. Segunda linha de tratamento

### 8.2.2.1. Em regiões com BAIXA e ELEVADA resistência à claritromicina

As opções terapêuticas de segunda linha para regiões com baixa resistência incluem a terapêutica quadrupla (com bismuto), e uma terapêutica com PPI levofloxacina e amoxicilina (Tabela 3) [9, 19].

**Tabela 3** – Esquemas terapêuticos de 2ª linha em regiões com alta e baixa resistência à claritromicina.

Terapêutica	Fármacos	Dose (mg)	Intervalo (horas)	Duração
Quadrupla	PPI*	*	*	10 a 14 dias
	Subsalicilato de bismuto	525	6	
	Metronidazol	250	6	
	Tetraciclina	500	6	
Tripla com levofloxacina	PPI*	*	*	10 dias
	Amoxicilina	500	12	
	Levofloxacina	500	12	

Nota: \* pode ser utilizado qualquer um dos PPI apresentados na tabela I, com o intervalo de tomas e dose lá mencionado. Os valores apresentados aplicam-se a indivíduos adultos. Adaptado de Garza-González, et al. (2014) e Wu, W., et al., (2012).

## 8.2.3. Terceira linha de tratamento

Não existe uma terapêutica *standard* para infeções refratárias bem estabelecida. Assim as linhas orientadoras recomendam que após a falha de terapêutica de segunda linha devam ser feitos testes de suscetibilidade antimicrobiana de forma a determinar os dois melhores antibióticos a associar a um PPI. Há, no entanto, um estudo prospetivo recente que demonstra a eficácia e segurança da terapia quadrupla com levofloxacina, amoxicilina,

bismuto e rabeprazol durante 10 dias no tratamento de terceira linha [19]. Outra alternativa consiste na associação de rifabutina, amoxicilina e ciprofloxacina durante 14 dias ou ainda terapia quadrupla à base de furazolidona, que consiste na associação de tetraciclina furazolidona, sais de bismuto e um PPI (Tabela 4) [9].

**Tabela 4** – Esquemas terapêuticos de 3ª linha.

Terapêutica	Fármacos	Dose (mg)	Intervalo (horas)	Duração
Quadrupla com levofloxacina	Rabeprazol	20	12	10 dias
	Amoxicilina	500	12	
	Levofloxacina	500	12	
	Bismuto	525	6	
Tripla com rifabutina	Rifabutina	150	12	14 dias
	Amoxicilina	1000	12	
	Ciprofloxacina	500	12	
Quadrupla com furazolidona	PPI*	*	*	7 a 10 dias
	Tetraciclina	500	6	
	Furazolidona	200	12	
	Bismuto	120	6	

Nota: \* pode ser utilizado qualquer um dos PPI apresentados na tabela 1, com o intervalo de tomas e dose lá mencionado. Os valores apresentados aplicam-se a indivíduos adultos.

Adaptado de Garza-González, et al. (2014) e Wu, W., et al. (2012).

### 8.3. Terapêutica adjuvante

A erradicação de *H. pylori* baseada em antibióticos tem um nível de eficácia bastante elevado. Contudo é uma terapêutica cara, que causa efeitos adversos e resistências bacterianas, que nem todos os indivíduos têm indicação para fazer, como é o caso de doentes assintomáticos e sem úlcera. No sentido de encontrar uma terapêutica capaz de prevenir e reduzir a colonização por *H. pylori*, assim como reduzir os efeitos adversos dos antibióticos foram exploradas várias alternativas. Os probióticos foram submetidos a estudos e demonstraram ter estas capacidades [18, 23].

Define-se como probiótico um microrganismo vivo capaz de conferir um efeito positivo na saúde do hospedeiro. São exemplo destes a *Saccharomyces boulardi*, os *Lactobacillus* e os *Bifidobacterium* [23, 24].

Com a realização de ensaios clínicos em adultos e crianças colonizados percebeu-se que os probióticos não são capazes de erradicar as bactérias. Contudo, em associação com a terapêutica antibacteriana mostraram ser uma mais-valia, uma vez que contribuem para a erradicação e diminuição dos efeitos adversos mais comuns, dos quais são exemplo os vômitos, a diarreia, a dor abdominal e as alterações do paladar [24].

O mecanismo de ação pelo qual os probióticos atuam não está completamente esclarecido, mas supõem-se que a sua ação envolva o sistema imunitário e/ou produção de substâncias antimicrobianas, como as bacteriocinas ou os ácidos orgânicos, ou competição pela adesão às células epiteliais e a intervenção na barreira mucosa [23, 24].

As bacteriocinas são pequenos compostos, resistentes ao calor e com estrutura péptica dialisável com possível atividade anti-*H. pylori*. Estes pequenos compostos são produzidos por várias espécies de bactérias inclusive pelas bactérias ácido-lácticas. Para além destes, os probióticos produzem ácidos gordos de cadeia curta como ácido fórmico, acético, propiónico, butírico e láctico, durante o metabolismo dos hidratos de carbono [24]. Estes ácidos não têm atividade direta na bactéria, mas contribuem para a diminuição do pH do meio. A adesão às células epiteliais, com referido anteriormente é determinante nas doenças associadas a este microrganismo. Os probióticos podem inibir a adesão de *H. pylori* às células epiteliais através da secreção de substâncias antimicrobianas e por competição com os locais de adesão, evitando desta forma que a bactéria colonize a mucosa gástrica. A redução da secreção de muco é também uma consequência da colonização por *H. pylori*, uma vez que este suprime a expressão dos genes *MUC1* e *MUC5A*. Os probióticos ao aumentarem a expressão destes genes parecem ter também aqui um papel importante [23, 24].

Os probióticos podem também modificar a resposta imunológica ao modelarem a secreção de citocinas anti-inflamatórias, o que se traduz na redução da inflamação. Eles têm também a capacidade estimular a resposta local através das IgA. Contudo, generalizar os efeitos dos probióticos têm sobre a resposta imunológica não é linear, uma vez que esta depende do estado imunitário do hospedeiro [23].

Estudos clínicos mostram que o uso de probióticos, em monoterapia, não é capaz de erradicar o *H. pylori*. No entanto, a sua associação com a terapêutica antibacteriana parece ser útil, contribuindo para o sucesso da erradicação seja pelos mecanismos referidos anteriormente, seja porque estes são capazes de reduzir os efeitos adversos, melhorando a *compliance* por parte do doente [23, 24].

Alguns alimentos podem também exercer efeito de proteção da mucosa assim como efeitos anti-*H. pylori*. Neste sentido, têm sido estudados extratos de alho, pelas suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, contudo o seu uso em humanos, pelos seus efeitos, é limitado. Mais recentemente tem sido estudado o sumo de *Cranberry*, que possivelmente através da ação das proantocianidinas, inibe a adesão das bactérias às células epiteliais, sendo já amplamente usado para evitar recidivas de infeções urinárias e da mesma

forma, parece ser útil em infecções por *H. pylori*, por inibir a sua adesão ao muco e às células epiteliais gástricas [24].

A lactoferrina bovina é uma glicoproteína que liga ferro e que tem ação antioxidante não enzimática, que se encontra na fração de soro do leite fermentado, assim como do colostro. Esta demonstrou aumentar a eficácia do tratamento antibacteriano triplo, provavelmente pela sua elevada afinidade para ligar o ferro limitando a sua disponibilidade e utilização pela bactéria. Para além desta capacidade um mecanismo adicional pode explicar a sua ação. Este passa pela capacidade que a lactoferrina demonstra em se ligar à membrana externa das bactérias de Gram negativo desencadeando a libertação de lipopolissacarídeos e matando a bactéria por dano osmótico. Para além desta, também outras proteínas do leite parecem ter propriedades gastro protetivas [18, 24, 25].

Em suma, existem alguns alimentos capazes de ajudar na erradicação deste microrganismo, assim como no alívio dos efeitos adversos da terapia. No entanto, ainda serão necessários mais estudos capazes de determinar a dose e o tipo de administração a ser utilizada, assim como estudos de custo-eficácia da sua utilização.

#### **8.4. A vacinação**

No futuro, a vacinação, seja terapêutica ou profilática, poderá ter um papel determinante na erradicação de *H. pylori*. A descoberta de uma vacina capaz de eliminar ou reduzir a infeção e a colonização por este microrganismo representaria uma redução na mortalidade e morbidade. A vacinação será também uma enorme mais-valia comparativamente à terapêutica hoje utilizada, uma vez que os antibióticos, apesar de terem a capacidade de erradicar a bactéria, não são capazes de prevenir uma re-infeção e, por norma, só se procede ao tratamento quando já há sintomas, o que pode ser indicador da presença de lesões mais graves na mucosa [26].

Até ao momento, os ensaios clínicos efetuados tiveram êxito limitado apesar de, em alguns casos, se ter verificado que a vacina teve capacidade de induzir a ativação do sistema imunitário e reduzir a carga bacteriana. Isto leva a crer que, de facto, é possível desenvolver uma vacina capaz de induzir imunidade protetora contra o *H. pylori*. Para que tal aconteça, é importante melhorar a compreensão da resposta imunitária protetora, assim como identificar as sequências genéticas que codificam os diferentes antígenos conservados entre estirpes, bem como desenvolver melhores adjuvantes [26]. No sentido de mostrar que a utilização de um adjuvante é importante no sucesso e eficácia da vacina, um grupo de investigação chinês estudou, em animais, uma vacina oral produzida por tecnologia recombinante onde associou a UreB bacteriana com IL-2 humana, formando uma proteína

quimérica. Como veículo de entrega foi utilizada uma bactéria ácido-láctica, *Lactococcus lactis*, bactéria de Gram positivo amplamente utilizada na produção de leite fermentado [27]. Apesar de este sistema permitir uma redução da carga infecciosa de *H. pylori*, através da ativação do sistema imunitário, não permitiu uma completa proteção contra a infecção [27].

Neste momento não é clara a importância destas estratégias na prevenção de *H. pylori*. No entanto, encontrar uma vacina eficaz e com uma boa relação custo-benefício deve continuar a ser objeto de investigação, de modo a melhorar o combate a este patógeno.

## 9. Conclusão

Em suma, *H. pylori* é um microrganismo com distribuição mundial que, em associação com fatores ambientais e do hospedeiro, é capaz de induzir patologias gástricas graves e outras não gástricas. Erradicar o microrganismo é essencial para evitar a evolução das lesões para formas mais graves. Em Portugal, os esquemas terapêuticos passam essencialmente pelo triplo, sequencial, concomitante e híbrido, de acordo com a resistência conhecida de *H. pylori* à claritromicina, aos quais se podem adicionar suplementos alimentares à base de probióticos. No futuro, o tratamento e prevenção da infecção poderá passar pela vacinação.

O farmacêutico, como técnico de saúde e do medicamento, pode ter ao longo de todo o processo um papel determinante, seja na área analítica, na indústria e na farmácia comunitária. Na área analítica, pode ser responsável por fazer a identificação de *H. pylori* nas amostras; na indústria contribui para a investigação e desenvolvimento de novos fármacos e formulações a utilizar na erradicação; e junto do doente, na farmácia, aconselha-o e ajuda-o a seguir o esquema terapêutico, assim como a contornar os efeitos adversos inerentes à terapêutica padrão de erradicação.

O conhecimento sobre *H. pylori* permanece incompleto estando muitas questões ainda por responder. Será necessário desbravar novos caminhos no sentido de encontrar soluções terapêuticas mais eficazes e que garantam o conforto do doente.

## 10. Referências bibliográficas

1. YANG, I., NELL, S., SUERBAUM, S. - **Survival in hostile territory: the microbiota of the stomach.** FEMS Microbiol Rev. 37, 5 (2013), p. 736-61.
2. DOWSETT, S.A.KOWOLIK, M.J. - **Oral Helicobacter pylori: can we stomach it?** Crit Rev Oral Biol Med. 14, 3 (2003), p. 226-33.
3. ROBIN WARREN, J.MARSHALL, B. - **UNIDENTIFIED CURVED BACILLI ON GASTRIC EPITHELIUM IN ACTIVE CHRONIC GASTRITIS.** The Lancet. 321, 8336 (1983), p. 1273-1275.
4. KUSTERS, J.G., VAN VLIET, A.H.M., KUIPERS, E.J. - **Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection.** Clinical Microbiology Reviews. 19, 3 (2006), p. 449-490.
5. DE FALCO, M., LUCARIELLO, A., IAQUINTO, S., ESPOSITO, V., GUERRA, G., DE LUCA, A. - **Molecular Mechanisms of Helicobacter pylori Pathogenesis.** Journal of Cellular Physiology. 230, 8 (2015), p. 1702-1707.
6. SEELEY, R.R., STEPHENS, T.D., TATE, P., **Anatomy & Physiology.** 7ª ed. New York: McGraw-Hill, 2006. 0-07-111651-6
7. QADRI, Q., RASOOL, R., GULZAR, G.M., NAQASH, S., SHAH, Z.A. - **H. pylori Infection, Inflammation and Gastric Cancer.** Journal of Gastrointestinal Cancer. 45, 2 (2014), p. 126-132.
8. MAZA, L.M.D.L., **Color atlas of medical bacteriology.** Washington, DC: AMS Press, 2004. 1-55581-206-6
9. GARZA-GONZÁLEZ, E. - **A review of Helicobacter pylori diagnosis, treatment, and methods to detect eradication.** World Journal of Gastroenterology. 20, 6 (2014), p. 1438.
10. CONTEDEUCA, V., SANSONNO, D., LAULETTA, G., RUSSI, S., INGRAVALLO, G., DAMMACCO, F. - **H. pylori infection and gastric cancer: state of the art (review).** Int J Oncol. 42, 1 (2013), p. 5-18.
11. ALMEIDA, N., ROMAOZINHO, J.M., DONATO, M.M., LUXO, C., CARDOSO, O., CIPRIANO, M.A., MARINHO, C., FERNANDES, A., CALHAU, C., SOFIA, C. - **Helicobacter pylori antimicrobial resistance rates in the central region of Portugal.** Clin Microbiol Infect. 20, 11 (2014), p. 1127-33.
12. DELAHAY, R.M.RUGGE, M. - **Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection.** Helicobacter. 17, (2012), p. 9-15.
13. DE LUCA, A., DE FALCO, M., IAQUINTO, S., IAQUINTO, G. - **Effects of Helicobacter pylori infection on cell cycle progression and the expression of cell cycle regulatory proteins.** Journal of Cellular Physiology. 200, 3 (2004), p. 334-342.
14. BACKERT, S.SELBACH, M. - **Role of type IV secretion in Helicobacter pylori pathogenesis.** Cellular Microbiology. 10, 8 (2008), p. 1573-1581.
15. MONACK, D.M., MUELLER, A., FALKOW, S. - **Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system.** Nat Rev Micro. 2, 9 (2004), p. 747-765.

16. **ÁLVAREZ-ARELLANO, L. - Helicobacter pylori and neurological diseases: Married by the laws of inflammation.** World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology. 5, 4 (2014), p. 400.
17. **TONKIC, A., TONKIC, M., LEHOURS, P., MÉGRAUD, F. - Epidemiology and Diagnosis of Helicobacter pylori Infection.** Helicobacter. 17, (2012), p. 1-8.
18. **MALFERTHEINER, P., MEGRAUD, F., O'MORAIN, C.A., ATHERTON, J., AXON, A.T., BAZZOLI, F., GENSINI, G.F., GISBERT, J.P., GRAHAM, D.Y., ROKKAS, T., EL-OMAR, E.M., KUIPERS, E.J. - Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report.** Gut. 61, 5 (2012), p. 646-64.
19. **WU, W., YANG, Y., SUN, G. - Recent Insights into Antibiotic Resistance in Helicobacter pylori Eradication.** Gastroenterol Res Pract. 2012, (2012), p. 723183.
20. **DE FRANCESCO, V., GIORGIO, F., HASSAN, C., MANES, G., VANNELLA, L., PANELLA, C., IERARDI, E., ZULLO, A. - Worldwide H. pylori antibiotic resistance: a systematic review.** J Gastrointestin Liver Dis. 19, 4 (2010), p. 409-14.
21. **MEGRAUD, F. - H pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing.** Gut. 53, 9 (2004), p. 1374-84.
22. **ZULLO, A., IERARDI, E., HASSAN, C., DE FRANCESCO, V. - Furazolidone-based therapies for Helicobacter pylori infection: a pooled-data analysis.** Saudi J Gastroenterol. 18, 1 (2012), p. 11-7.
23. **LESBROS-PANTOFlickOVA, D., CORTHEsy-THEULAZ, I., BLUM, A.L. - Helicobacter pylori and probiotics.** J Nutr. 137, 3 Suppl 2 (2007), p. 812S-8S.
24. **GOTTELAND, M., BRUNSER, O., CRUCHET, S. - Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by Helicobacter pylori?** Aliment Pharmacol Ther. 23, 8 (2006), p. 1077-86.
25. **SACHDEVA, A., RAWAT, S., NAGPAL, J. - Efficacy of fermented milk and whey proteins in Helicobacter pylori eradication: a review.** World J Gastroenterol. 20, 3 (2014), p. 724-37.
26. **ZAWAHIR, S., CZINN, S.J., NEDRUD, J.G., BLANCHARD, T.G. - Vaccinating against Helicobacter pylori in the developing world.** Gut Microbes. 4, 6 (2013), p. 568-76.
27. **ZHANG, H.X., QIU, Y.Y., ZHAO, Y.H., LIU, X.T., LIU, M., YU, A.L. - Immunogenicity of oral vaccination with Lactococcus lactis derived vaccine candidate antigen (UreB) of Helicobacter pylori fused with the human interleukin 2 as adjuvant.** Mol Cell Probes. 28, 1 (2014), p. 25-30.

**Imagem de capa** adaptada de:

<http://www.mpg.de/9264796/helicobacter-pylori-fingerprint-gastric-cancer> [Acedido a 3 de julho 2015]

<http://abcfarma.org.br/noticias/dor-de-estomago-ou-dor-de-barriga.html> [Acedido a 3 de julho 2015]