



Universidade De Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Departamento de Nutrição  
Trabalho de Conclusão de Curso

**MAYARA DARÉ VIDIGAL**

**AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS T CD8+ EM GASTRITE ASSOCIADA  
OU NÃO À INFECÇÃO PELA BACTÉRIA *Helicobacter pylori***

**BRASÍLIA**

**DEZEMBRO DE 2015**

**MAYARA DARÉ VIDIGAL**

**AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS T CD8+ EM GASTRITE ASSOCIADA OU NÃO À  
INFECÇÃO PELA BACTÉRIA *Helicobacter pylori***

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado ao departamento de Nutrição da  
Universidade de Brasília como requisito parcial  
para a obtenção do título de Bacharel em  
Nutrição.

---

Orientadora: Prof. Dra. Eliza Carla Barroso  
Duarte

**BRASÍLIA**  
**DEZEMBRO DE 2015**

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Microscopia da mucosa gástrica com gastrite inativa de antro.....	13
<b>Figura 2:</b> Imunoexpressão de Linfócitos T CD8 na mucosa gástrica com gastrite inativa de antro.....	14
<b>Figura 3:</b> Microscopia da mucosa gástrica com gastrite ativa leve de antro.....	15
<b>Figura 4:</b> Imunoexpressão de Linfócitos T CD8 na mucosa gástrica com gastrite ativa leve de antro.....	15
<b>Figura 5:</b> Microscopia da mucosa gástrica com gastrite ativa moderada de antro.....	16
<b>Figura 6:</b> Imunoexpressão de Linfócitos T CD8 na mucosa gástrica com gastrite ativa moderada de antro.....	17

## SUMÁRIO

Resumo.....	5
1. Introdução.....	6
2. Metodologia.....	10
3. Resultados.....	13
4. Discussão.....	17
5. Conclusões.....	20
6. Referências.....	20
7. Anexo.....	24

## RESUMO

A *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa que atravessa a camada de muco protetora do estômago causando diversos danos. O processo inflamatório induz primeiro uma gastrite crônica superficial, podendo progredir para atrófica, metaplasia, displasia e, por fim, carcinoma gástrico. Descobertas recentes demonstraram a presença de *H. pylori* no ambiente intracelular de células epiteliais e mielóides, bem como resposta de células T CD8+ em indivíduos infectados por esta bactéria. Estudos clínicos com humanos, tanto em crianças quanto em adultos, sugerem a associação entre a colonização por *H. pylori* e o aumento de células T CD8+ com o desenvolvimento de úlceras gástricas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as células T CD8+ em gastrite associada ou não à infecções causada pela bactéria *Helicobacter pylori*. Para a seleção das amostras os cortes histológicos foram analisados e classificados de acordo com a presença ou não de atividade inflamatória, intensidade do infiltrado inflamatório, formações de agregados linfóides ou hiperplasia linfóide folicular e presença ou ausência de bactérias, sendo então divididos em três grupos: I. Gastrite inativa de antro, negativa para *H. pylori* (20 casos); II. Gastrite ativa leve de antro, negativa para *H. pylori* (20 casos); III. Gastrite ativa moderada de antro, positiva para *H. pylori* (20 casos). Os casos de gastrite tiveram os diagnósticos confirmados através da técnica de hematoxilina e eosina (HE). A avaliação da expressão de células T CD8+ foi realizada pela técnica da imunistoquímica em amostras de blocos em parafina, em que foi utilizado o Polymer Detection Kit, da Biocare Medical. Os controles positivos e negativos foram incluídos em todas as reações. As lâminas foram analisadas semiquantitativamente em relação a presença de *H. pylori* e de células T CD8+. O primeiro grupo apresentou lâmina própria alargada, com sutil aumento das células habituais. A avaliação das células T CD8+ evidenciou que 85% dos casos apresentaram leve positividade (+) e 15% dos casos moderada positividade (++). No segundo grupo as glândulas estão dispostas em meio a lâmina própria, que apresenta infiltração constituída por mono e polimorfonucleares. A avaliação das células T CD8+ evidenciou que 75% dos casos apresentaram moderada positividade (++) e 25% dos casos acentuada positividade (+++). No terceiro grupo as glândulas estão dispostas em meio a lâmina própria, que se mostra infiltrada por moderada quantidade de mono e polimorfonucleares. A avaliação das células T CD8+ evidenciou que 5% dos casos apresentaram moderada positividade (++) e 95% dos casos acentuada positividade (+++). No estabelecimento das gastrites verifica-se a participação linfocitária, com organização desse tecido desde a infiltração linfocitária difusa, passando pelos agregados linfóides até o estabelecimento de folículos linfóides com centros germinativos. Observa-se uma relação direta entre a imunexpressão de linfócitos T CD8+ e a intensidade da inflamação. Nesse sentido, a comparação entre gastrite inativa e ativa comprova tal fato, bem como a maior quantidade de linfócitos T CD8+ na gastrite ativa moderada quando comparada a gastrite ativa leve.

**Palavras-chaves:** *H. Pylori*, Gastrite, Neoplasia Gástrica, Células T CD8+.

## 1. INTRODUÇÃO

A *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa, descoberta em 1983, que possui este nome devido ao seu formato em hélice espiralada. Apresenta uma elevada taxa de crescimento e aderência, sendo encontrada apenas na mucosa gástrica. Essa bactéria atravessa a camada de muco protetora, causando infecções locais de intensidade variável, como gastrite, úlceras pépticas e câncer de estômago. O impacto dessa descoberta foi um dos avanços mais importantes da gastroenterologia, o que levou os pesquisadores descobridores a conquistar o prêmio Nobel de Medicina em 2005 (COELHO, LEÓN-BARÚA, QUIGLEY, 2000; BARBOSA e SCHINONNI, 2011).

Uma das características da *H. pylori* é a capacidade de instalar-se por um longo período a partir da interação com a célula do hospedeiro. A *H. pylori* expressa grande quantidade de uréase, que é convertida em amônia e CO<sub>2</sub>, neutralizando parte da acidez estomacal (ANDO et al., 2006; BARBOSA e SCHINONNI, 2011).

Os indivíduos com positividade para a *H. pylori* podem apresentar cepas distintas desta bactéria, uma vez que existe uma heterogeneidade genética. A transmissão da *H. pylori* ocorre por ingestão da bactéria principalmente no contexto familiar. Estudos apontam que, dentro da família, a principal fonte de contaminação é a mãe (LEHOURS et al., 2004; PORTAL-CELHAY e PEREZ-PEREZ, 2006).

Os métodos diagnósticos para a identificação deste microrganismo podem ser invasivos ou não invasivos. A biópsia por endoscopia, com aplicação do teste rápido de uréase, é considerado um teste invasivo, e pode ser acompanhada da análise de cultura microbiológica ou de imunistoquímica para identificação da bactéria. A imunistoquímica é considerada padrão ouro para este diagnóstico. O método não invasivo mais utilizado é o teste respiratório com uréia marcada com carbono 13 ou 14, em que se analisa o CO<sub>2</sub> marcado com radioisopo expirado após a ingestão de uma solução de uréia com este

carbono marcado radioativamente (COELHO, LEÓN-BARÚA, QUIGLEY, 2000; BARBOSA e SCHINONNI, 2011).

A infecção por *H. pylori* ocorre em todo o mundo, mas há uma variação em diferentes países, e em grupos populacionais dentro da mesma nação. O grau de exposição ao agente etiológico pode ser determinante e varia de acordo com o poder aquisitivo médio da população, que se traduz em hábitos alimentares, além de fatores ambientais (BARBOSA; SCHINONNI, 2011).

A estimativa da população mundial infectada pela bactéria é de cerca de 50%, sendo que esta predominância é maior nos países em desenvolvimento (MULLER et. al, 2007). A *H. Pylori* é frequentemente adquirida na infância, no entanto, a persistência bacteriana pode durar por toda a vida (YAMAOKA, 2010). Entretanto, estudo mais recente aponta que a prevalência da infecção por *H. pylori* está diminuindo em adultos e crianças, tanto em países desenvolvidos, como nos que estão em desenvolvimento (TONKIC et al., 2012).

A colonização no tecido gástrico pela *H. pylori*, quase sempre, é acompanhada por um processo inflamatório (SUERBAUM & MICHETTI, 2002). Uma das consequências presentes em quase todos os indivíduos infectados é a gastrite, que se estabelece em longo prazo, apesar de muitos hospedeiros permanecerem assintomáticos (BARBOSA & SCHINONNI, 2011). Esse processo inflamatório induz primeiro uma inflamação aguda, seguida de crônica superficial, podendo progredir para gastrite crônica atrófica, metaplasia, displasia e por fim carcinoma gástrico (FIGUEIREDO et al., 2012).

A fase aguda é caracterizada por um processo inflamatório transitório, decorrente de uma ou mais influências como, o aumento da secreção ácida gástrica, redução da produção de bicarbonato, diminuição do fluxo sanguíneo, dano direto ao endotélio, uso prolongado de antiinflamatórios não esteroidais, uso excessivo de álcool e cigarro, tratamento quimioterápico, infecções sistêmicas bacterianas ou virais, estresse intenso e traumas. (ROBINS & COTRAN, 2010).

Na gastrite aguda observa-se aumento da permeabilidade gástrica e um infiltrado neutrofílico. Em sua forma mais leve, o epitélio superficial conserva-se íntegro e há presença de poucos neutrófilos. A gastrite aguda em atividade caracteriza-se pela presença de neutrófilos na superfície epitelial acima da membrana basal. Há aumento considerável deste infiltrado inflamatório e produção de exsudato purulento com fibrina em lesões mucosas mais intensas, com manifestação de erosão e hemorragias (ROBINS & COTRAN, 2010).

A gastrite crônica pode durar décadas caso não seja adequadamente tratada. Nessa fase são observadas alterações na mucosa podendo levar à sua atrofia e à metaplasia intestinal. Suas principais causas são infecção crônica pelo *H. pylori*, doença autoimune, toxicidade, refluxo de secreções biliares duodenais após cirurgia gástrica, motoras e mecânicas, irradiação e doenças granulomatosas (DANI, 2011).

Histologicamente, na gastrite crônica observa-se linfócitos e/ou plasmócitos na lâmina própria associada a metaplasia e atrofia. Na gastrite crônica autoimune a lesão prevalece na mucosa do corpo e fundo do estômago. Já a gastrite causada pelo *H. pylori* tende a afetar a mucosa do antro e/ou a do corpo e fundo (ROBINS & COTRAN, 2010).

Não há comprovação de que fatores dietéticos específicos causem ou agravem a gastrite, principalmente devido à maioria dos alimentos serem consideravelmente menos ácidos que o pH gástrico normal. Entretanto, alimentos proteicos tendem a minimizarem secreções gástricas temporariamente, mas têm como “efeito rebote” a estimulação de secreção de gastrina, ácido e pepsina. Em pacientes com gastrite já instalada não recomenda-se o uso de grandes quantidades de bebida alcoólica, cafeína e pimenta pois aumentam as secreções gástricas, podendo causar diversos danos (KRAUSE et al., 2013).

A exposição contínua ao antígeno implicará, conseqüentemente, no recrutamento de células T e uma indução na produção de anticorpos pelas células B. As células T auxiliares imaturas (Th0) expressam CD4, e podem se diferenciar em dois subtipos



funcionais: células Th1, que são secretoras de IL-2 e interferon  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ); e as células Th2, que secretam IL-4, IL-5, e IL-10. Tanto as células Th1, como as Th2, estimulam diferentemente a resposta das células B contra os microrganismos invasivos (KANG et al., 2009).

As células T CD8+, também denominadas como citotóxicas, são responsáveis por limitar infecções por patógenos, sendo mais comum o vírus. Estas eliminam os alvos infectados com grande precisão, poupando as células vizinhas normais. O mecanismo de ação das células T CD8+ se dá a partir da liberação de grânulos citotóxicos que contêm três classes de proteínas: a perforina, que atua na entrega do conteúdo dos grânulos para a membrana das células-alvo; a granzina, que ativa a apoptose após adentrarem o citoplasma da célula-alvo; e a granulicina, que possui ação antimicrobiana e pode induzir apoptose (MURPHY, 2010).

A resposta imune às doenças infecciosas representa um equilíbrio complexo entre a indução bem sucedida de respostas inflamatórias e antiinflamatórias, necessárias para limitar os danos aos tecidos do hospedeiro (TAAMS et al., 2006). O estudo de Lundgren e colaboradores (2003) sugere que em indivíduos infectados por *H.pylori*, as células CD4+ e CD25+ podem contribuir para uma infecção crônica devido à supressão das células T de memória apropriadas para esta bactéria.

Tradicionalmente, o *H. pylori* é visto como uma bactéria extracelular. No entanto, descobertas recentes demonstram a presença de *H. pylori* no ambiente intracelular de células epiteliais e mielóides, além de serem detectadas respostas de células T CD8+ em indivíduos infectados por esta bactéria. Entretanto, o papel de células T CD8+ na resposta imune ao *H. pylori* tem sido mal definido até o momento provavelmente pelo fato da célula T CD4+ ser mais numerosa na mucosa gástrica em relação à CD8+ nos experimentos realizados com animais. Estudos clínicos com humanos, tanto em crianças quanto em adultos, sugerem a associação entre a colonização por *H. pylori* e o aumento

de células T CD8+ com o desenvolvimento de úlceras gástricas (KRONSTEINER et al., 2014; HELMIN-BASA et al., 2011; GRAHAM et al., 2004).

Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar e quantificar a célula T CD8+ em gastrites associadas ou não à infecções causada pela bactéria *Helicobacter pylori*.

## **2. METODOLOGIA**

### ***Delineamento do Estudo***

Esse estudo foi desenvolvido de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, já aprovado (ANEXO 1). A amostra foi de conveniência e foram selecionados casos que apresentaram material suficiente para a análise e com diagnóstico histológico de gastrite, correlacionados ou não com a presença da bactéria *Helicobacter pylori*.

### ***Seleção das amostras***

Baseado em critérios pré-estabelecidos, os cortes histológicos das amostras obtidas, foram analisados e classificados de acordo com a presença ou não de atividade inflamatória, intensidade do infiltrado inflamatório, formações de agregados linfóides ou hiperplasia linfóide folicular e presença ou ausência de bactérias.

### ***Determinação dos grupos a serem analisados***

Após os procedimentos descritos no item anterior, foram empregadas as seguintes subdivisões para o presente estudo:

- I. Gastrite inativa de antro, negativa para *H. pylori*, 20 casos;
- II. Gastrite ativa leve de antro, negativa para *H. pylori*, 20 casos;
- III. Gastrite ativa moderada de antro, positiva para *H. pylori*, 20 casos.

### ***Técnicas Empregadas***

Os casos de gastrite tiveram os diagnósticos confirmados por dois examinadores (Patologistas) através da técnica de hematoxilina e eosina (HE). A avaliação da expressão de células T CD8 positivas foi realizada pela técnica da imunistoquímica em amostras de blocos em parafina.

O material selecionado, incluído em parafina, foi seccionado em micrótomo. Foram obtidos cortes consecutivos de 5µm e colocados sobre lâminas. Os cortes histológicos foram corados pelo método da hematoxilina-eosina (HE).

Para a técnica imunistoquímica foi utilizado o Polymer Detection Kit, da Biocare Medical. Após o recorte dos blocos em parafina, procedeu-se as seguintes etapas:

- I. Os cortes sobre as lâminas foram desparafinizados em xilol e hidratados em banhos crescentes de álcool etílico;
- II. As lâminas foram incubadas em tampão Citrato e aquecidas em banho maria digital a uma temperatura de 95°C para exposição antigênica;
- III. As lâminas foram lavadas com tampão de lavagem TRIS (TBS) e incubadas em peróxido de hidrogênio a 3% por 30 minutos;
- IV. Os cortes foram incubados com a solução para bloqueio das proteínas endógenas por 30 minutos e em seguida lavadas com TBS;
- V. Para finalizar o primeiro dia da reação, as lâminas foram incubadas com os anticorpos primários, por 18 horas à temperatura de 4°C.

Os anticorpos primários utilizados foram: anticorpo monoclonal anti-CD8 (C8/144B, Dako); anticorpos primários policlonal anti- *H. pylori* (Dako Corp., Carpinteria, CA). As diluições foram realizadas utilizando PBS associado a soro albumina bovina (PBS-BSA) a 1%.

- VI. Após o período de 18 horas, foram realizadas lavagens com TBS e, posteriormente, as lâminas foram incubadas com Polymer Detection Kit, da Biocare Medical por 30 minutos e conforme orientações do fabricante.
- VII. Novamente, lavou-se as lâminas com TBS e, a seguir, procedeu-se à revelação da reação utilizando o cromógeno 3.3'-Diaminobenzidina (DAB) (Dako) por 10 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, a reação foi interrompida com água destilada e as lâminas foram contra coradas com hematoxilina, por 2 minutos, à temperatura ambiente.
- VIII. Após serem lavadas com água corrente por 5 minutos, as lâminas foram desidratadas com álcoois, passadas em xilol e montadas com solução de resina não aquosa .

Os controles positivos e negativos foram incluídos em todas as reações. As lâminas foram analisadas semiquantitativamente em relação a presença de *H. pylori* e de células T CD8+ .

### **Considerações éticas**

O material parafinado analisado já foi submetido à remoção cirúrgica e encontra-se atualmente em blocos de parafina, desta forma, a pesquisa não acarretará em riscos físicos para os pacientes. A identificação dos pacientes e de todo o material analisado serão mantidos em total confidencialidade, sendo identificados por códigos numéricos que indiquem apenas os blocos que contenham os fragmentos de tecido. Além disso, quando da divulgação e publicação dos dados, não se fará menção, em nenhum momento, ao nome ou qualquer tipo de dado que possa identificar os indivíduos participantes da pesquisa. Os benefícios gerados pela pesquisa não serão diretos e nem usufruídos pelos sujeitos da pesquisa, mas os resultados poderão servir como base para evolução da terapêutica contra a gastrite.

### 3. RESULTADOS

Os casos de gastrite selecionados e divididos em três grupos apresentaram as seguintes características:

#### **I. Gastrite inativa de antro negativa para *H. pylori***

Mucosa de antro gástrico com glândulas preservadas e dispostas em meio a lâmina própria alargada com aumento da celularidade habitual, verificando-se a presença de leucócitos mononucleares, plasmócitos e linfócitos. Não são identificados polimorfonucleares. Ausência de hiperplasia folicular e de estruturas sugestivas de bacilos (Figura 1). A avaliação das células T CD8+ evidenciou que 85% dos casos apresentaram leve positividade (+) (Figura 2) e 15% dos casos moderada positividade (++)

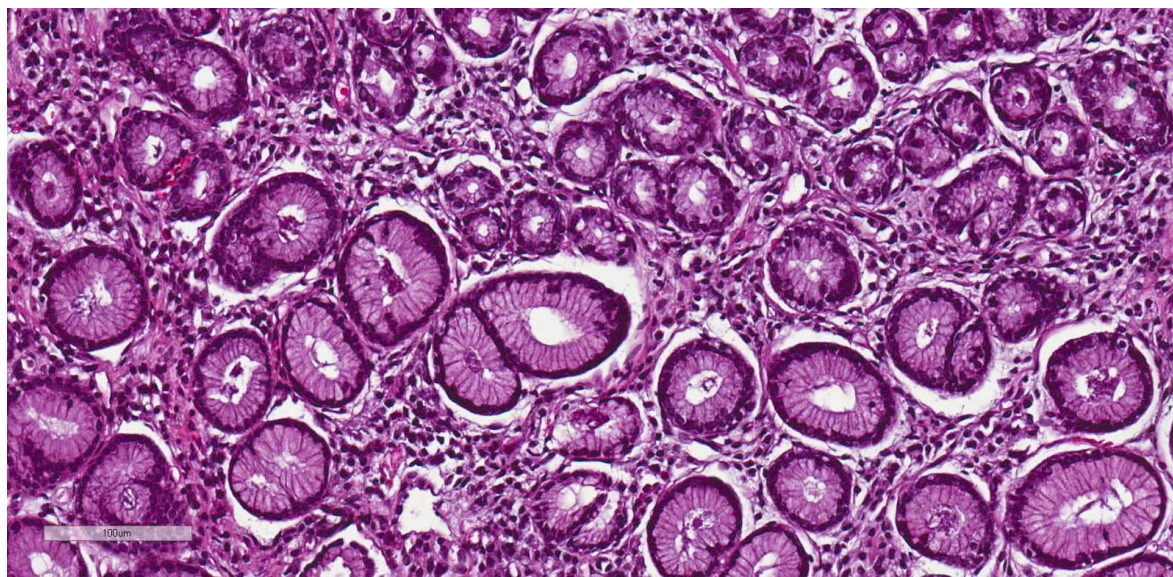


Figura 1: HE da mucosa gástrica com gastrite inativa de antro.

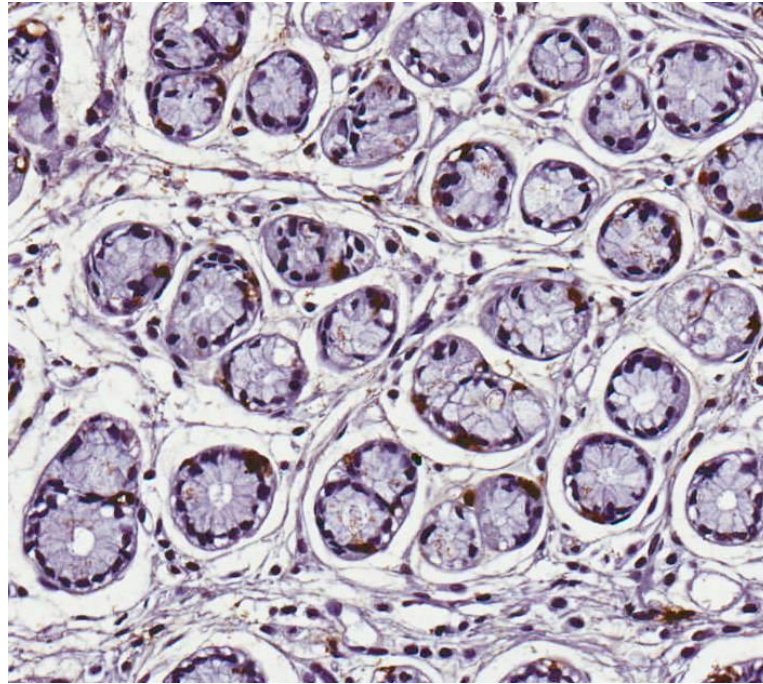


Figura 2: Imunoistoquímica: imunoexpressão de Linfócitos T CD8 na mucosa gástrica com gastrite inativa de antro.

## **II. Gastrite ativa leve de antro negativa para *H. pylori***

Mucosa de antro gástrico apresentando lâmina própria alargada por infiltrado de células inflamatórias mono e polimorfonucleares, em quantidade variável de leve a moderada, com a presença de linfócitos e plasmócitos e que invade, lesa ou destrói o revestimento glandular. Verifica-se ainda, a presença de agregados linfoides, alguns com centros germinativos, delimitados por halo linfocitário (Figura 3). Ausência de formas bacilares sugestivas de *Helicobacter pylori*. A avaliação das células T CD8+ evidenciou que 75% dos casos apresentaram moderada positividade (++) (Figura 4) e 25% dos casos acentuada positividade (+++).

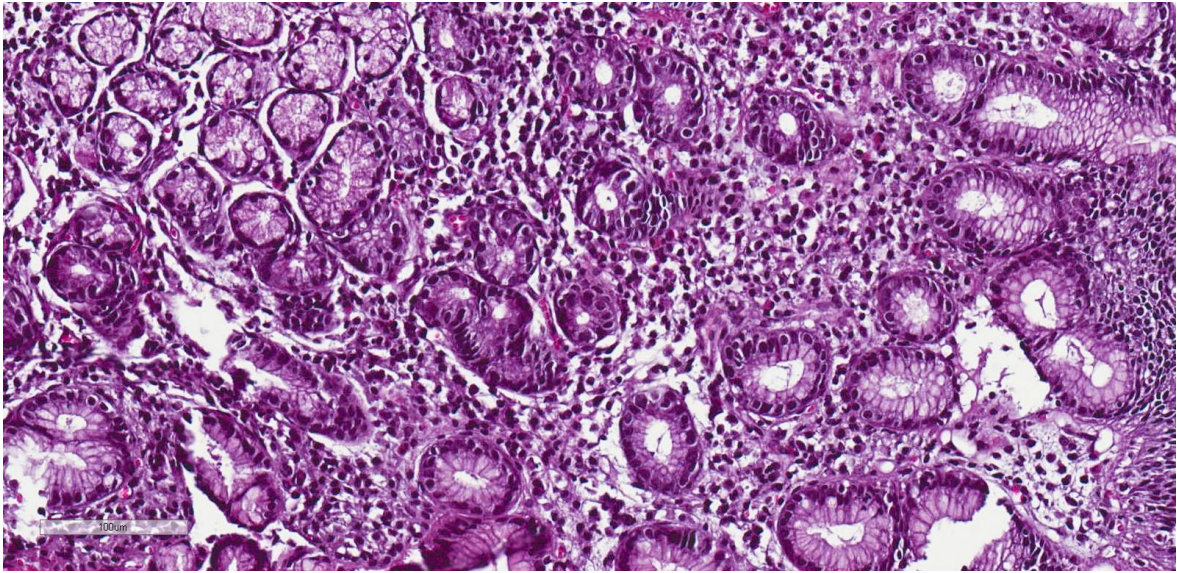


Figura 3: HE da mucosa gástrica com gastrite ativa leve de antro

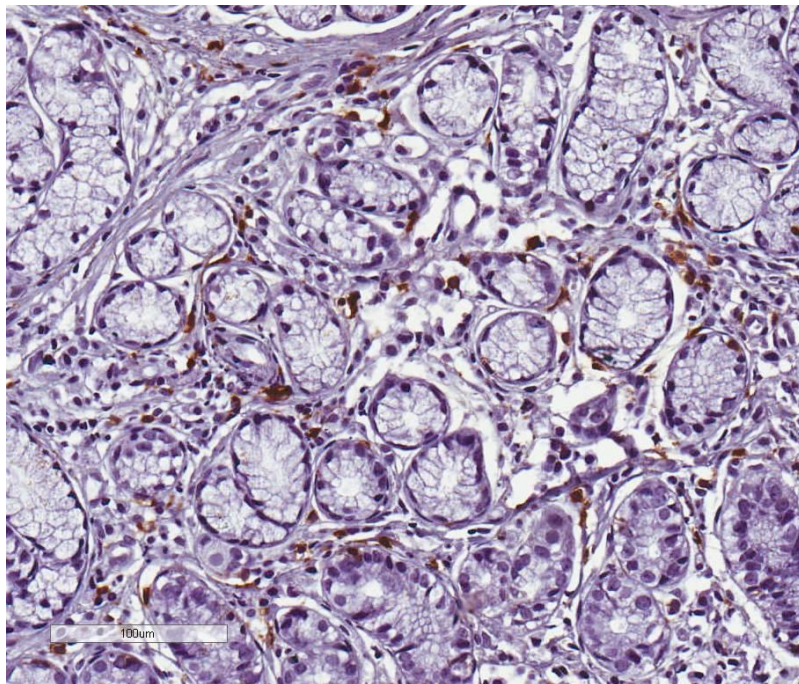


Figura 4: Imunoistoquímica: imunoexpressão de Linfócitos T CD8 na mucosa gástrica com gastrite ativa leve de antro.

### **III. Gastrite ativa moderada de antro positiva para *H. pylori***

Mucosa de antro gástrico apresentando lâmina própria alargada por infiltrado de células inflamatórias mono e polimorfonucleares, em quantidade variando de moderada a intensa, com a presença de linfócitos e plasmócitos (Figura 5). Esse infiltrado de células invade e destrói o revestimento glandular. Verifica-se ainda, a presença de agregados linfóides, muitos com centros germinativos amplos e delimitados por halo linfocitário. Observa-se ainda, a presença de formas bacilares sugestivas de *Helicobacter pylori* em moderada a grande quantidade, tanto no revestimento superficial epitelial, que envolve as foveólas, como no lúmen das glândulas, principalmente naquelas infiltradas por leucócitos. A avaliação das células T CD8+ evidenciou que 95% dos casos apresentaram acentuada positividade (+++) (Figura 6) e 5% dos casos moderada positividade (++)

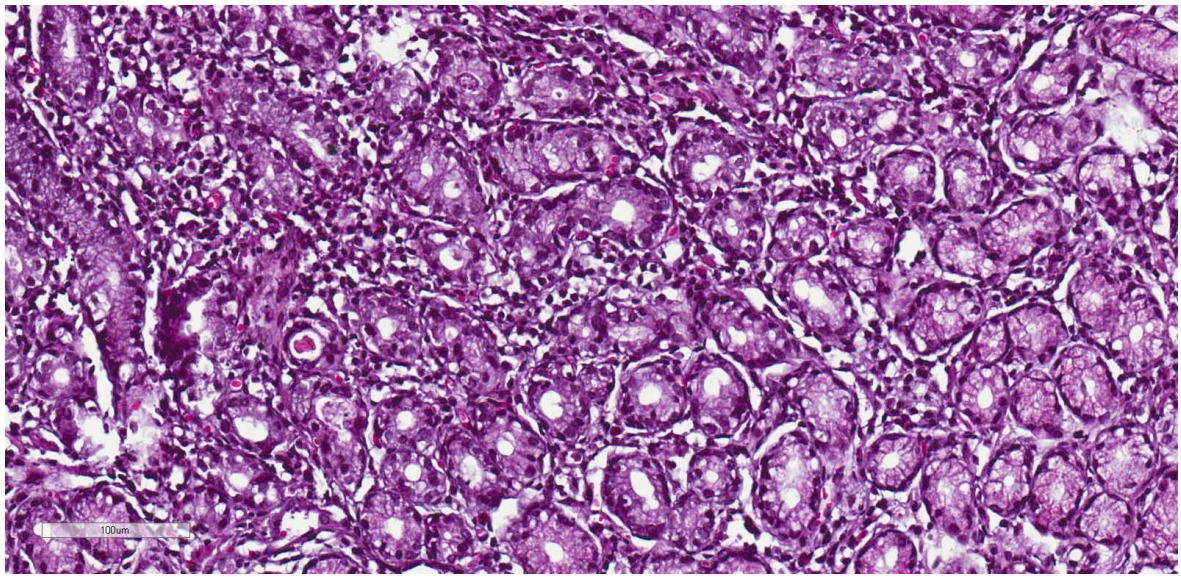


Figura 5: HE da mucosa gástrica com gastrite ativa moderada de antro positiva para *H.pylori*.



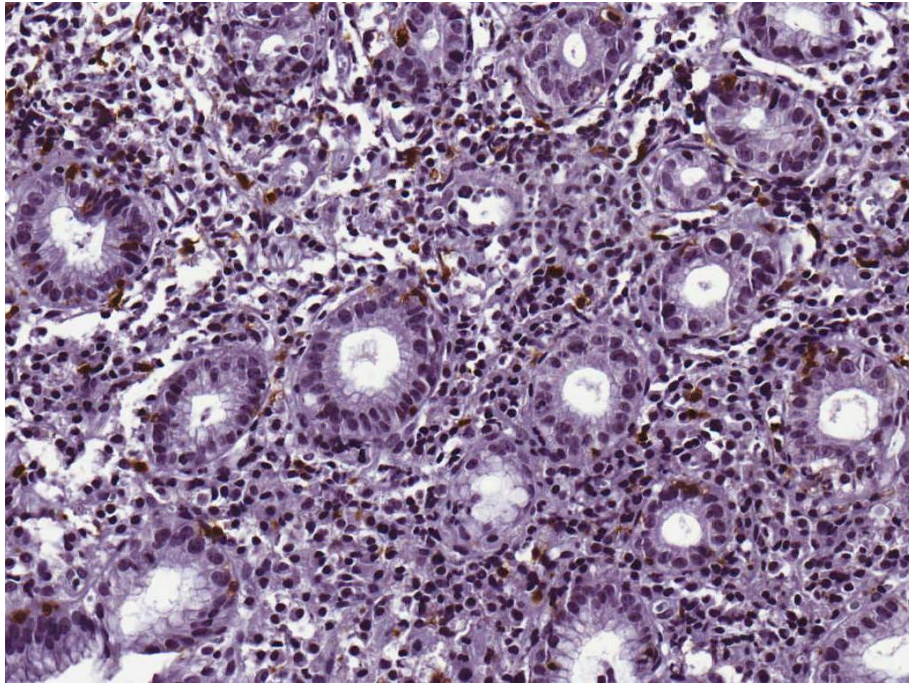


Figura 6: Imunoistoquímica: imunoexpressão de Linfócitos T CD8 na mucosa gástrica com gastrite ativa moderada de antro.

#### 4. DISCUSSÃO

A mucosa gástrica de pacientes pode apresentar atividade inflamatória, sendo esta, inativa ou ativa. Os quadros de gastrite inativa decorrem de estímulos inflamatórios prévios da mucosa, que a partir da eliminação do estímulo determina um quadro caracterizado pelo alargamento da lâmina própria. Esse alargamento é caracterizado por edema e o aumento da população celular habitual desse compartimento, onde são identificados histiócitos, plasmócitos e linfócitos (WARREN & MARSHALL, 1984; FUKUDA et al., 2000).

Existem situações em que a interação da mucosa com estímulos indutores da resposta inflamatória, sejam eles, endógenos ou exógenos estabelece um quadro de atividade dessa inflamação. Situações que, além do alargamento da lâmina própria pelo

aumento de células, verifica-se íntimo contato de células inflamatórias com as células de revestimento epitelial glandular, constituindo microabcessos nessas estruturas.

Quanto à celularidade observada, verifica-se leucócitos polimorfonucleares como efectoras da atividade lesiva do epitélio glandular. Geralmente nesse processo de atividade dois outros elementos podem estar presentes. O primeiro é a observação de linfócitos dispostos em agregados e às vezes constituindo folículos linfóides bem definidos e com centros germinativos proeminentes (ZIMAITY et al., 2004; MOLNAR et al., 2010). O segundo é a ocorrência de formas bacilares do *H. pylori*, tanto no revestimento epitelial superficial envolvendo as foveolas quanto no revestimento epitelial glandular. A presença desses bacilos não apresenta correlação com a intensidade da resposta inflamatória e nem com o grau de destruição dos elementos epiteliais (BLASER & BERG, 2001; FUKUDA et al., 2000). Inclusive, há relatos na literatura, da existência de bacilos em situações de gastrite inativa e na mucosa normal. Essa situação pode estar associada tanto a cepa bacilar envolvida, bem como, a intensidade da infecção presentes na mucosa (NOGUEIRA et al., 2001).

Verificando os resultados, observa-se uma relação direta entre a imunoexpressão de linfócitos T CD8+ e a resposta inflamatória. Nesse sentido, a comparação entre gastrite inativa e ativa comprova tal fato, bem como a maior quantidade de linfócitos T CD8+ na gastrite leve quando comparada a gastrite leve.

Após essas considerações, verifica-se a correlação entre a *H. pylori*, inflamação e mecanismos imunológicos de defesa. Se por um lado, encontra-se descrito na literatura a inexistência de correlação direta entre a quantidade de bacilos e a intensidade da inflamação, o mesmo não se pode dizer da organização do tecido linfoide na mucosa gástrica (MOLNAR et al., 2010).

A presença de infiltrado linfocitário difuso na mucosa gástrica geralmente se segue de um processo organizacional desse tecido linfoide, inicialmente constituído de agregados linfóides seguido de folículos linfóides com centros germinativos amplos. Tal

progressão da organogênese é verificada em doenças infecciosas, inflamatórias, autoimunes e até mesmo em neoplasias (BAIK, 1996; FOX & WANG, 2002; RODRIGUES, 2002). Atribui-se a essa progressão a elaboração da resposta do hospedeiro aos estímulos indutores.

O aumento da imunexpressão de linfócitos T CD8 observado permite a especulação de algumas situações que apresentam nexos com o exposto anteriormente. O que ocorre quando essas células ou até mesmo células com diferentes fenótipos, mas que atuam no eixo regulador da imunidade. Essa resposta será melhor esclarecida a partir da avaliação da imunexpressão de células FOXP3 positivas, que podem ser células TCD8 ou TCD4. Ao confirmar-se a positividade dessas células TCD8 para FOXP3 demonstrar-se-á a relevância dos mecanismos regulatórios nas gastrites, principalmente quando houver a participação do *H. pylori* como agente causal. Esse fato, adquire maior importância quando observa-se na literatura publicações demonstrando a correlação entre a ocorrência de neoplasias da mucosa gástrica epiteliais e linfoides com história pregressa de infecções pela *H. pylori* (MULLER et al., 2007; ROBERTS et al. 2015; FERRAZ et al., 2015; ).

Assim sendo, esses indícios podem melhor permitir o entendimento do estabelecimento de neoplasias associadas a estímulo carcinogênico biológico microbiano com o *H. pylori* e sua correlação com mecanismos da imunidade que atuam na via efetora de danos celulares observados em doenças infecciosas crônicas como a Paracoccidiodomicose (DUARTE et al., 2014) autoimunes, como a Artrite Reumatóide (KOMATSU & TAKAYANAGI, 2015) e neoplasias intestinais (CHEN et al., 2015).

Dados iniciais deste material sugerem a existência de diversidade populacional de macrófagos e linfócitos T. Considerando que ambos também participam de mecanismos de defesa do hospedeiro em diversas situações, pretende-se, portanto, avaliar suas expressões e tentar correlacionar com as alterações morfológicas observadas nos diferentes graus com e sem a presença de *H. pylori*.

## 5. CONCLUSÕES

Diante destes resultados conclui-se que a ocorrência de gastrite está associada ou não a infecção por *H.pylori*, além des poderem ser inativas ou ativas. As gastrites ativas podem ter diferentes graus de intensidade. No estabelecimento das gastrites verifica-se a participação linfocitária, inicialmente com organização desse tecido desde a infiltração linfocitária difusa, passando pelos agregados linfoides até o estabelecimento de folículos linfoides com centros germinativos. No estabelecimento das gastrites verifica-se a participação de subpopulações de linfócitos.

Dados iniciais deste material sugerem a existência de diversidade populacional de macrófagos e linfócitos T. Considerando que ambos também participam de mecanismos de defesa do hospedeiro em diversas situações, sugere-se, portanto, avaliar suas expressões e tentar correlacionar com as alterações morfológicas observadas nos diferentes graus com e sem a presença de *H. pylori*.

## 5. REFERÊNCIAS

1. ANDO, T.; GOTO, Y.; MAEDA, O.; WATANABE, O.; ISHIGURO, K.; GOTO, H. Causal role of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. *World J Gastroenterol*; 12(2):181-186, 2006.
2. BARBOSA, Antonio Joel; SCHINONNI, Maria Isabel. *Helicobacter pylori*: Associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. **Rev. Cienc. Med. Biol.**, Salvador, v.10, n.3, p.254-262, set./dez. 2011.
3. BAIK S.C. et al. Increased oxidative DNA damage in infected human gastric mucosa. **Cancer Res.**, 56: 1279-82, 1996.
4. BLASER, M.J. & BERG, D.E. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. **J. Clin. Invest.**, 107(7): 767-73, 2001.

5. CHEN Y, YUAN R, WU X, HE X, ZENG Y, FAN X, WANG L, WANG J, LAN P, WU X. A Novel Immune Marker Model Predicts Oncological Outcomes of Patients with Colorectal Cancer. **Ann Surg Oncol.**, Nov 2015.
6. COELHO, L.G.; LEÓN-BARÚA, R.; QUIGLEY, E.M. Latin-American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* Infection. **Am J Gastroenterol**, 95:2688-91, 2000.
7. DANI, RENATO; PASSOS, MARIA DO CARMO FRICHE. **Gastroenterologia Essencial**. Guanabara Koogan, 4<sup>a</sup> edição, 2011.
8. CARDOSO RM, JHAM BC, DO CARMO GM, BATISTA AC, DE OLIVEIRA FA, DE PAULA EC, MESQUITA RA, DA SILVA TA, DUARTE EC. The relation between FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells and fungal density in oral paracoccidioidomycosis: a preliminary study. *Mycoses*. 2014 Dec;57(12):771-4. doi: 10.1111/myc.12226. Epub 2014 Aug 15.
9. FERRAZ MA, ZABAGLIA LM, PEREIRA WN, ORCINI WA, DE LABIO RW, NETO AC, WISNIESKI F, CALCAGNO DQ, SANTOS LC, ASSUMPÇÃO PP, BURBANO RR, ARTIGIANI R, SMITH MA, PAYÃO SL, RASMUSSEN LT. Downregulated Expression of E-cadherin and TP53 in Patients with Gastric Diseases: the Involvement of H. pylori Infection and Its Virulence Markers. **J Gastrointest Cancer**. Nov 2015.
10. FIGUEIREDO C. et al. Helicobacter pylori and interleukin 1 genotyping: na opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. **Cancer Inst.**, vol. 94, p. 1680-7, 2012.
11. FOX, J.G. & WANG T.C. Helicobacter pylori infection: pathogenesis. **Curr. Opin. Gastroenterol**, 18: 15-25, 2002.
12. FUKUDA, S. et al. Helicobacter pylori infection, gastritis and gastric cancer. Histological analysis of gastritis and Helicobacter pylori infection in patients with early gastric cancer: a case-control study. **J Gastroenterol Hepatol**, v. 15, p. 1370-6, 2000.

13. GRAHAM DY, OPEKUN AR, OSATA MS, EL-ZIMAITY HM, LEE CK, YAMAOKA Y, QURESHI WA, CADOZ M, MONATH TP. Challenge model for *Helicobacter pylori* infection in human volunteers. **Gut Microbes**; 53: 1235–1243, 2004.
14. HELMIN-BASA A, MICHALKIEWICZ J, GACKOWSKA L, KUBISZEWSKA I, ELJASZEWICZ A, MIERZWA G, BALA G, CZERWIONKA-SZAFLARSKA M, PROKURAT A, MARSZALEK A. Pediatric *Helicobacter pylori* infection and circulating T-lymphocyte activation and differentiation. **Helicobacter**, 16:27-35. 2011.
15. MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. **Imunobiologia de Janeway**. Porto Alegre: ArtMed, 7ª edição. 2010.
16. KOMATSU N, TAKAYANAGI H. Regulatory T cells in Arthritis. **Prog Mol Biol Transl Sci**. 136:207-1. Epub Aug 2015.
17. MAHAN, Kathleen L.; ESCOTT-STUMP, Sylvia; RAYMOND, Janice L. **Krause - Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Elsevier / Medicina Nacionais. 13ª Ed. São Paulo, 2013.
18. KRONSTEINER, B.; BASSAGANYA-RIERA, J.; PHILIPSON, N.; HONTECILLAS, R. Novel insights on the role of CD8+ T cells and cytotoxic responses during *Helicobacter pylori* infection. **Gut Microbes** 5:3, 357–362; May/June 2014.
19. RODRIGUES, Maria A. M., LADEIRA, Marcelo S. P., SALVADORI, Daisy M. F. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, volume 39 numero 4 pag: 335-342. 2002.
20. LEHOURS, P. et al. Evaluation of the association of nine *Helicobacter pylori* virulence factors with strains involved in low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. **Infect. Immun.**, Bethesda, v. 72, n. 2, p. 880–888, Feb. 2004.
21. MOLNAR B, GALAMB O, SIPOS F, LEISZTER K, TULASSAY Z. Molecular pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection: the role of bacterial virulence factors. **Dig Dis**. 2010;28(4-5):604-8. Nov 2010.

22. MULLER L. B., FAGUNDES R. B., MORAES C. C., RAMPAZZO A. Prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* e das lesões precursoras do câncer gástrico em pacientes dispépticos. **Arq. Gastroenterol.** v. 44 – no.2 – abr./jun. 2007.
23. NOGUEIRA, C. *et al.* *Helicobacter* genotypes may determined gastric histopathology. **Am J Pathol**, v. 158, p. 647-54, 2001.
24. PORTAL-CELHAY, C.; PEREZ-PEREZ, G. I. Immune responses to *Helicobacter pylori* colonization: mechanisms and clinical outcomes. **Clin. Sci.**, London, v. 110, n. 3, p. 305–314, Mar. 2006.
25. ROBERTS SE, MORRISON-REES S, SAMUEL DG, THORNE K, AKBARI A, WILLIAMS JG. Review article: the prevalence of *Helicobacter pylori* and the incidence of gastric cancer across Europe. **Aliment Pharmacol. Ther.** Nov 2015.
26. ROBBINS & COTRAN. Patologia: Bases patológicas das doenças. 8ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
27. SUERBAUM, S.; MICHETTI, P. *Helicobacter pylori* infection. **N Engl J Med.** 347: 1175-1186, 2002.
28. TAAMS, L. S.; PALMER, D. B.; AKBAR, A. N.; ROBINSON, D. S.; BROWN, Z.; HAWRYLOWICZ, C. M. Regulatory T cells in human disease and their potential for therapeutic manipulation. **Immunology**, 118, 1-9. 2006.
29. TONKIC, A. *et al.* *Epidemiology and diagnosis of Helicobacter pylori Infection.* **Helicobacter**, v. 17, Supl. 1, p. 1-8, 2012.
30. WARREN, J.R. & MARSHALL, B.J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **Lancet**, 16 1(8390): 1311-5, 1984.
31. YAMAOKA Y. Mechanisms of Disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. **Nat. Ver. Gastroenterol. Hepatol.** N.7, v. 11, p. 629-41, 2010.

## **6. ANEXOS**

### **ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA**

**O comprovante de aprovação do Comitê de Ética encontra-se em arquivo PDF no CD.**



