

vacA* como biomarcador de patogenicidade em isolados clínicos de *Helicobacter pylori

Ivy Bastos Ramis*, Tesiê Leopoldo Fonseca, Ernani Pinho de Moraes, Márcia Fernandes, Raul Mendoza Sassi, Obirajara Rodrigues, Carlos Renan Varela Juliano, Pedro Eduardo Almeida da Silva

* ivynha_@hotmail.com

FURG – Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Palavras Chave: Helicobacter pylori, gene vacA

Introdução/Objetivo

Helicobacter pylori é o principal agente etiológico de gastrite crônica, sendo essencial na gênese da úlcera péptica e um fator de risco para o desenvolvimento do câncer gástrico. No entanto, a evolução da infecção parece depender da expressão dos genes de patogenicidade da bactéria, como, por exemplo, o gene *vacA*, que codifica uma citotoxina vacuolizante capaz de induzir à formação de vacúolos citoplasmáticos nas células epiteliais. O gene é constituído pela região sinal, com os alelos, *s1* e *s2*; e pela região média, com os alelos, *m1* e *m2*. Em geral, as linhagens *s1/m1* produzem grande quantidade de toxina vacuolizante, as linhagens *s1/m2* produzem moderada quantidade, enquanto que as linhagens *s2/m2* produzem pouca ou nenhuma quantidade¹.

O objetivo deste trabalho foi investigar, nos isolados clínicos de *H. pylori*, a presença dos alelos do gene *vacA*, associando-os com o diagnóstico endoscópico.

Metodologia

Foram incluídos no estudo 41 isolados clínicos de *H. pylori* obtidos a partir do cultivo de biópsias do antro gástrico coletadas de pacientes dispépticos.

Após a coleta, as biópsias foram mantidas em caldo Brain Heart Infusion com 20% de glicerol e refrigeradas por no máximo 4 h. A seguir, o caldo foi vigorosamente agitado e 200 µL da mistura foi semeada em meio Ágar Colúmbia, suplementado com 7% de sangue de ovino e com mistura seletiva para isolamento de *Helicobacter* sp., contendo vancomicina, ácido nalidíxico e anfotericina B. O meio foi incubado à 37°C, sob condições de microaerofilia (5-15% de O₂ e 10% de CO₂), por 4 a 10 dias². A identificação colonial realizou-se através da amplificação do gene *ureA*³.

A extração de DNA, a partir da cultura, foi realizada com DNAzol[®] Reagent, seguindo instruções do fabricante. A presença dos alelos do gene *vacA* foi investigada por PCR utilizando os primers descritos previamente.

Resultados e Discussão

O gene *vacA* foi identificado em 95,1% (39/41) dos isolados clínicos (Tabela 1). Apenas 4,9% (2/41) dos isolados não apresentaram este gene.

Tabela 1: Distribuição dos alelos do gene *vacA* em 39 isolados de *H. pylori*

Alelos	% (Número de Isolados Clínicos)
<i>s1</i>	69,2% (27/39)
<i>s2</i>	30,8% (12/39)
<i>m1</i>	33,3% (13/39)
<i>m2</i>	53,9% (21/39)
<i>m1m2</i>	12,8% (5/39)

Os alelos *s1* e *m2* foram os mais frequentes. Além disto, 12,8% dos isolados apresentaram simultaneamente os alelos *m1* e *m2*, o que sugere coinfecção com duas cepas diferentes de *H. pylori*. As frequências das combinações de alelos do gene *vacA* está descrita na tabela 2.

Tabela 2: Frequências das combinações de alelos do gene *vacA*

Alelos	% (Número de Isolados Clínicos)
<i>s1/m1</i>	33,3% (13/39)
<i>s1/m2</i>	28,2% (11/39)
<i>s2/m2</i>	25,7% (10/39)
<i>s1/m1m2</i>	7,7% (3/39)
<i>s2/m1m2</i>	5,1% (2/39)

A relação do gene *vacA* com o diagnóstico endoscópico está descrita na tabela 3.

Tabela 3: Distribuição dos alelos do gene *vacA* em isolados de *H. pylori* provenientes de pacientes com diferentes desordens gástricas

Alelos	Gastrite Enantematosa	Gastrite Erosiva
<i>s1/m1</i>	38,5% (5/13)	61,5% (8/13)
<i>s1/m2</i>	36,4% (4/11)	63,6% (7/11)
<i>s2/m2</i>	80,0% (8/10)	20,0% (2/10)
<i>s1/m1m2</i>	66,7% (2/3)	33,3% (1/3)
<i>s2/m1m2</i>	50,0% (1/2)	50,0% (1/2)

Assim, percebe-se que os alelos *s1/m1* e *s1/m2* foram detectados, predominantemente, em isolados de pacientes com gastrite erosiva. Isto se deve ao fato de estes alelos se correlacionarem com a infiltração de células polimorfonucleares e com a intensidade do dano epitelial. Já, os alelos *s2/m2* e *s1/m1m2* foram frequentemente observados em isolados de pacientes com gastrite enantematosa, fato que sugere estarem tais alelos associados com dano leve na mucosa gástrica⁴.

Conclusão

A detecção do gene *vacA* possibilita uma melhor avaliação da potencialidade patogênica dos isolados clínicos. O uso de biomarcadores de patogenicidade que possibilitem um diagnóstico precoce da infecção pelo *H. pylori*, bem como um prognóstico da evolução da infecção, terão um importante impacto no tratamento e acompanhamento destes pacientes.

Referências Bibliográficas

1. Van Doorn *et al.* Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori vacA*. J. Clin. Microbiol. v. 36, p. 2597–2603, 1998.
2. Mégraud & Lehours. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. Clin. Microbiol Reviews. v. 20, p. 280-322, 2007.
3. Rota *et al.* Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3' region of *cagA* gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. J. Clin. Microbiol. v. 39, p. 606-612, 2001.
4. Araya *et al.* Relación de la genotipificación de *Helicobacter pylori* con la forma e intensidad de la gastritis en población adulta portadora de patología gástrica benigna. Rev. Méd. Chile. v. 132, p. 1345-1354, 2004.