

PREVALÊNCIA DOS GENES DE VIRULÊNCIA DA *HELICOBACTER PYLORI* EM AMOSTRAS DE MUCOSA ORAL.

ROBERTO ANTÔNIO GURGEL GOMES JÚNIOR^{1,2*}, PIETRA CALEGARI MENDES^{2,3}, DANIELA AUGUSTIN SILVEIRA^{2,4}, GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI^{2,4}, JOSSIMARA POLETTINI^{2,5}

1 Introdução

O câncer gástrico é uma doença com uma gama de fatores associados ao seu desenvolvimento, desde genéticos até comportamentais, devido à exposição a agentes infecciosos, como o *Helicobacter pylori*, que é um bacilo gram-negativo, microaerófilo e flagelado. Desde a sua descoberta, chegou-se ao consenso da relação dessa bactéria com o desenvolvimento de doenças gastrointestinais.

O mecanismo preciso de transmissão do *H. pylori* ainda não foi completamente esclarecido. Alguns estudos recentes detectaram a presença de material genético dessa bactéria na cavidade oral (SALMANIAM *et al.*, 2008). Esses dados contribuem para o entendimento de que esse microrganismo possa utilizar a cavidade oral como meio de infecção ou reinfecção, ou mesmo meio reservatório nos indivíduos, podendo a regurgitação do suco gástrico ser uma forma de contribuição para tal (DESAI *et al.*, 1991).

O *H. pylori* possui alguns genes de virulência que provocam e intensificam diversas disfunções gástricas. O gene *cagA* (*cytotoxin-associated gene A*) induz a produção da proteína de mesmo nome, a qual atua como antígeno imunogênico, responsável por uma maior expressão de citocinas inflamatórias, como a Interleucina (IL)-8 e IL-1 β . Assim, convém destacar que pacientes infectados por cepas *cagA* positivas têm um risco três vezes maior para o desenvolvimento de câncer gástrico em relação às cepas *cagA* negativas (PARSONET *et al.*, 1997). Adicionalmente, o gene *oipA* está relacionado com processos inflamatórios e úlcera péptica, devido à codificação da Proteína Inflamatória Externa (*outer membrane inflammatory protein - oipA*), que provoca o aumento da inflamação e secreção de IL-8 (TABASSAM, GRAHAM, YAMAOKA, 2008), facilita a infiltração de neutrófilos nas

1 Discente do curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Passo Fundo – RS, contato: roberto.gurgel@estudante.uffs.edu.br

2 Grupo de Pesquisa: Inovação em Saúde Coletiva: políticas, saberes e práticas de promoção da saúde.

3 Discente do curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Passo Fundo – RS

4 Docente do curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Passo Fundo – RS

5 Docente do curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Passo Fundo – RS. Orientadora

células do hospedeiro, potencializa a inflamação e permite a colonização da bactéria na mucosa gástrica (HORRIDGE *et al.*, 2017).

2 Objetivos

Avaliar a frequência dos genótipos de *Helicobacter pylori* de acordo com a presença de genes de virulência em amostras bucais de pacientes em atendimento ambulatorial e relacioná-los às características sociodemográficas e de saúde dos pacientes estudados.

3 Metodologia

Trata-se de um estudo transversal realizado na cidade de Passo Fundo, RS, entre 01 de setembro de 2023 a 31 de agosto de 2024. O trabalho é um recorte do estudo prévio, cujas amostras foram coletadas no período de 2020 a 2023 de pacientes que aguardavam atendimento nos ambulatórios da Universidade Federal da Fronteira Sul campus Passo Fundo, com inclusão de 263 amostras. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS sob parecer número 4.527.806.

Os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido e responderam a um questionário sobre dados sociodemográficos e comportamentais. Após concordância, escovas cervicais descartáveis estéreis foram utilizadas para a coleta de amostras da cavidade oral dos participantes, através de raspagem da mucosa oral. Após a coleta, a escova foi acondicionada em tubo estéril de 15 mL contendo 1 mL de solução tampão que foram mantidos a -20° C até a extração do DNA, através do método CTAB/NaCl e precipitação com clorofórmio-ácido isoamílico.

A detecção de DNA de *H. pylori* nas amostras foi realizada com primers específicos através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). As amostras positivas foram então consideradas para o presente estudo, com a detecção dos genes de virulência pela técnica de PCR, com uso de primers específicos, descritos por Ranjbar *et al.* (2018).

Os dados dos questionários e os laudos dos resultados da PCR foram digitados duplamente em uma planilha eletrônica no EPIDATA. A análise estatística descritiva consistiu de distribuição de frequências (prevalência das variáveis dependentes e proporções das variáveis independentes). Para a análise da relação da variável dependente com as independentes foi empregado o Teste de Qui quadrado ou Teste Exato de Fisher, considerando-se o nível de significância estatística de 5%.

4 Resultados e Discussão

A prevalência de amostras positivas para *H. pylori* foi de 35,7% (n=94/263), as quais

foram consideradas para esse estudo. Dentre as 94 amostras positivas, observou-se predominância do sexo feminino (67%), faixa etária de 30 a 59 anos (58,5%), com escolaridade até ensino fundamental (48,9%) e moradores da zona urbana (80,9%). Poucos foram os casos de pessoas que moravam sozinhas (9,6%), enquanto o percentual de pessoas que viviam com 4 ou mais pessoas no mesmo domicílio foi de 25,5% (Tabela 1). O perfil sociodemográfico foi semelhante ao observado por Aguiar *et al.* (2008), em um estudo dedicado à busca desse patógeno na cavidade oral, cuja prevalência foi de 60,4% no sexo feminino. O tabagismo e o etilismo foram reportados por 13,8% e 34,0% dos indivíduos, respectivamente (Tabela 1).

A prevalência do gene *cagA* foi de 11,7%, enquanto a do gene *oipA* foi de 22,3%, sendo que 2,1% tiveram detecção dos dois genes. A prevalência do gene *cagA* nesse estudo foi consideravelmente menor à encontrada no estudo de Medina *et al.*, (2017), os quais encontraram 45% de positividade para *cagA* em indivíduos positivos para *H. pylori* na cavidade oral. Convém destacar que o estudo referenciado trabalhou com indivíduos sintomáticos para problemas gástricos e com indicação para endoscopia, o que pode justificar a prevalência superior dos dados. Flores-Treviño *et al.* (2019), observaram uma presença de 21,7% para o gene *cagA* naqueles indivíduos positivos para *H.pylori* e com o diagnóstico de periodontite. Por outro lado, na Tailândia, quase 50% de pacientes assintomáticos com detecção de *H. pylori* bucal apresentaram o gene *cagA* (TIRAPATTANUN *et al.*, 2016), o que reforça o fator regionalidade para a distribuição dos genes de virulência nas diferentes populações, como ressaltado por Kim *et al.*, (2021) quanto à distribuição do gene *oipA* entre coreanos e norte-americanos. No presente estudo, a presença do gene de virulência em mais de 10% dos indivíduos portadores de *H. pylori* bucal alerta para a possibilidade dessa parcela da população possuir reservatório de cepas relacionadas ao câncer gástrico na população estudada.

Os dados sobre a prevalência do gene *oipA* na cavidade oral de pacientes são escassos, o que afirma o pioneirismo do presente estudo. Em biópsias gástricas positivas para *H. pylori*, a prevalência desse gene é superior a 36% (MACIEL *et al.*, 2024).

Dentre as características de saúde, foi visto com significância estatística que indivíduos tabagistas apresentaram uma maior prevalência do gene *cagA* (30,8%) em relação aos não tabagistas (9,6%), $p=0,035$ (Tabela 1). É importante destacar que não foram encontrados dados na literatura que abordem a relação do tabagismo e a presença de cepas *cagA* positivas. Dessa maneira, a explicação do mecanismo fisiopatológico dessa possível

associação e o entendimento do tabagismo como fator de risco para cepas mais virulentas do *H. pylori* torna-se um tópico importante de novos estudos a fim de entender essa correlação.

Os dados sociodemográficos e de saúde não se relacionaram significativamente com a presença do gene *oipA*, assim como Maciel *et al.* (2024) não encontraram relação entre positividade desse gene e variáveis como sexo e idade. Tais resultados demonstram que ainda não há um perfil de pacientes acometidos, e a detecção pode auxiliar no acompanhamento e manejo para que gastropatias não se desenvolvam nos indivíduos acometidos.

Tabela 1: Distribuição da positividade para DNA-*Helicobacter pylori* de acordo com características sociodemográficas e de saúde e relação com os genes de virulência *cagA* e *oipA* em amostras de cavidade oral de pacientes sintomáticos ou assintomáticos. Passo Fundo, RS, 2020-2023.

Variáveis	Total (n = 94)	Positividade para <i>cagA</i>		Positividade para <i>oipA</i>	
	n (%)	n (%)	p*	n (%)	p*
Sexo			0,328		0,571
Masculino	31 (33,0)	5 (17,9)		8 (25,8)	
Feminino	63 (67,0)	6 (10,3)		13 (20,6)	
Faixa etária			0,674		0,454
18-29	5 (5,3)	1 (20,0)		2 (40,0)	
30-39	19 (20,2)	1 (5,9)		7 (36,8)	
40-49	17 (18,1)	2 (13,3)		2 (11,8)	
50-59	19 (20,2)	4 (21,1)		3 (15,8)	
≥ 60	34 (36,2)	3 (10,0)		7 (20,6)	
Escolaridade			0,435		0,794
Até ensino fundamental	46 (48,9)	7 (17,1)		9 (19,6)	
Até ensino médio	41 (43,6)	3 (7,7)		10 (24,4)	
Além do ensino médio	7 (7,4)	1 (16,7)		2 (28,6)	
Residência			0,503		0,989
Zona urbana	76 (80,9)	8 (11,6)		17 (22,4)	
Zona rural	18 (19,1)	3 (17,6)		4 (22,2)	
Número de pessoas no domicílio			0,109		0,847
1 pessoa	9 (9,6)	3 (33,3)		1 (11,1)	
2 pessoas	32 (34,0)	1 (3,3)		7 (21,9)	
3 pessoas	29 (30,9)	4 (16,0)		7 (24,1)	
4 ou mais pessoas	24 (25,5)	3 (13,6)		6 (25,0)	
Tabagismo			0,035		0,517
Sim	13 (13,8)	4 (30,8)		2 (15,4)	
Não	81 (86,2)	7 (9,6)		19 (23,5)	
Etilismo			0,981		0,938
Sim	32 (34,0)	4 (12,9)		7 (21,9)	
Não	62 (66,0)	7 (12,7)		14 (22,6)	

* Teste do Qui-quadrado ou Exato de Fisher, $p < 0,05$.

5 Conclusão

A prevalência de genes de virulência de *H. pylori* varia de 12-23% na mucosa oral de indivíduos positivos para a bactéria nessa localidade, o que pode representar possível reservatório e maior possibilidade de desenvolvimento de gastropatias. Não há um perfil sociodemográfico estabelecido entre pacientes sintomáticos ou não, o que indica a necessidade de novos estudos e também rastreamento das cepas virulentas na população em geral. Por outro lado, o tabagismo está significativamente relacionado à presença de *cagA*, o que alerta para maior possibilidade de doenças relacionadas à bactéria nessa população.

Referências Bibliográficas

DESAI, H. G. et al. Dental plaque: a permanent reservoir of *Helicobacter pylori*?. *Scandinavian journal of gastroenterology*, v. 26, n. 11, p. 1205-1208, 1991.

FLORES-TREVIÑO, C. E. et al. Molecular detection of *Helicobacter pylori* based on the presence of *cagA* and *vacA* virulence genes in dental plaque from patients with periodontitis. *Journal of dental sciences*, v. 14, n. 2, p. 163-170, 2019.

HORRIDGE, D. N. et al. Outer inflammatory protein a (OipA) of *Helicobacter pylori* is regulated by host cell contact and mediates CagA translocation and interleukin-8 response only in the presence of a functional *cag* pathogenicity island type IV secretion system. *Pathogens and disease*, v. 75, n. 8, p. ftx113, 2017.

KIM, A. et al. Geographic diversity in *Helicobacter pylori* oipA genotype between Korean and United States isolates. *Journal of Microbiology*, v. 59, p. 1125-1132, 2021.

MACIEL, D. N. et al. *Helicobacter pylori* oipA virulence gene as a molecular marker of severe gastropathies. *Arquivos de Gastroenterologia*, v. 61, p. e23110, 2024.

MEDINA, M. L.; MEDINA, M. G.; MERINO, L. A. Correlation between virulence markers of *Helicobacter pylori* in the oral cavity and gastric biopsies. *Arquivos de Gastroenterologia*, v. 54, n. 3, p. 217-221, 2017.

Parsonnet, J., Friedman, G. D., Orentreich, N., & Vogelmann, H. (1997). Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 40(3), 297-301.

Ranjbar, R., Farsani, F. Y., & Dehkordi, F. S. (2018). Phenotypic analysis of antibiotic resistance and genotypic study of the *vacA*, *cagA*, *iceA*, *oipA* and *babA* genotypes of the *Helicobacter pylori* strains isolated from raw milk. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 7, 1-14.

SALMANIAN AH; Siavoshi F; Akbari F; Afshari A; Malekzadeh R. Yeast of the oral cavity is the reservoir of *Helicobacter pylori*. *J Oral Pathol Med*. Feb 5, 2008.

Tabassam FH, Graham DY, Yamaoka Y (2008) OipA plays a role in *Helicobacter pylori*-induced focal adhesion kinase activation and cytoskeletal re-organization. *Cell Microbiol* 10(4):1008–1020. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.01104.x>

Palavras-chave: *Helicobacter pylori*, cavidade oral, virulência, *cagA*, *oipA*.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2023-0515

Financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul-FAPERGS, PROCESSO PROA n. 23/2551-0001183-2.