

Apoptose: implicações na carcinogênese gástrica e sua associação com *Helicobacter pylori*

Apoptosis: implications in the gastric carcinogenesis and its relationship with Helicobacter pylori

Aline C. Targa¹ Ana E. Silva²

¹Mestre em Genética*; ²Professor Adjunto*

*Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de São José do Rio Preto, SP.

Resumo A apoptose, um processo geneticamente regulado de morte celular programada, desempenha um papel importante na homeostase do tecido, com a eliminação de células excedentes ou danificadas. A apoptose tem sido investigada em diversas doenças, com a finalidade de compreender o envolvimento desse evento em patologias como AIDS, doenças autoimunes e neurodegenerativas e câncer. No processo de múltiplos passos do câncer gástrico há indicações de apoptose aumentada em lesões pré-malignas como gastrite atrófica, úlcera gástrica e metaplasia intestinal induzidas pela *Helicobacter pylori*, que pode ser reduzida após erradicação da bactéria. Apesar da eliminação de células epiteliais na mucosa gástrica, por apoptose, ser um processo fisiológico normal, quando aumentada, pode levar a uma proliferação excessiva compensatória, aumentando a chance de danos no DNA e a carcinogênese gástrica. A regulação da apoptose é, portanto, um alvo promissor para intervenção terapêutica. Esses aspectos são discutidos nessa revisão, enfatizando os mecanismos de ação da *Helicobacter pylori* na indução da apoptose.

Palavras-chave Apoptose; Gastropatias; Neoplasias Gástricas; Infecções por *Helicobacter*, *Helicobacter pylori*.

Abstract Apoptosis, a process genetically regulated of programmed cell death, plays an essential role in tissue homeostasis, by eliminating unnecessary or damaged cells. The apoptosis has been investigated in several diseases in order to understand its involvement in diseases such as AIDS, autoimmune and neurodegenerative diseases and cancer. In the multistep process of gastric cancer, there is evidence of increased apoptosis occurring in premalignant lesions such as atrophic gastritis, gastric ulcer and intestinal metaplasia induced by *Helicobacter pylori*. This process decreases after the eradication of the bacterium. Although the elimination of epithelial cells of the gastric mucosa by apoptosis is a normal physiological process, excessive apoptosis in *Helicobacter pylori*-induced gastritic lesions can lead to compensatory hyperproliferation, thus increasing the risk of DNA damage and gastric carcinogenesis. Therefore, the regulation of apoptosis is a promising target for therapeutic strategies. In this review, these aspects are discussed, emphasizing the mechanisms of action of *Helicobacter pylori* in the apoptosis induction.

Keywords Apoptosis; Stomach Diseases; Stomach Neoplasms; *Helicobacter* Infections; *Helicobacter pylori*.

ASPECTOS GERAIS DA APOPTOSE

A apoptose desempenha função essencial na manutenção da integridade da mucosa gastrintestinal e sua desregulação está associada com a ocorrência de lesões como gastrite atrófica, úlcera péptica e tumorigênese do estômago¹.

A apoptose, proposta primeiramente por Kerr et al.² é uma forma de morte celular, geneticamente regulada, caracterizada por mudanças morfológicas, bioquímicas e alterações genética moleculares. Desequilíbrios entre os processos de apoptose e proliferação celular resultam em distúrbio na homeostase do tecido e a sua desregulação está relacionada com o desenvolvimento de

diversas doenças como o câncer, doenças autoimunes e neurodegenerativas e infecções virais³.

Morfologicamente, a apoptose é caracterizada pela degeneração de células esparsas com condensação e fragmentação da cromatina, condensação citoplasmática e redução do volume celular, mantendo, porém, a integridade das organelas citoplasmáticas e da membrana celular. Em seqüência, ocorre a formação de corpos apoptóticos e fagocitose pelas células vizinhas normais e macrófagos. Bioquimicamente, a degradação do DNA não é casual, ocorrendo pela ação de nucleases nos espaços internucleossomais, originando fragmentos de 180 a 200

pares de bases³.

A apoptose é um processo rápido e não sincronizado no órgão, com tempo de duração variável de uma a três horas, coexistindo diferentes estágios de apoptose em diversas regiões dos tecidos⁴. Pode ser induzida por diferentes agentes etiológicos, como infecção viral, radiação, várias toxinas e drogas, isquemia, perturbação metabólica, fatores hormonais e depleção de fatores de crescimento. Por outro lado, alguns outros fatores previnem a apoptose (anti-apoptóticos), como os fatores de sobrevivência tecido-específicos ou gerais, por exemplo, hormônios, citocinas e fatores de crescimento⁵.

Em geral, a apoptose ocorre em duas fases distintas, a fase de decisão na qual os produtos gênicos necessários para desencadear o processo são acumulados, e a fase de execução, pela ativação em cascata de enzimas específicas denominadas caspases. A partir dessa etapa, o processo é irreversível⁶.

As caspases, proteases específicas de aspartato contendo cisteína, clivam seus substratos protéicos especificamente após um resíduo de ácido aspártico. Estão presentes no núcleo como pró-enzimas inativas, constituídas de uma subunidade grande (20 kDa) e uma pequena (10 kDa). A ativação das caspases iniciadoras, tais como as caspases 2, 8, 9 e 10, por sinais pró-apoptóticos leva à ativação proteolítica das caspases efetoras 3, 6 e 7. Essas caspases clivam um grupo de proteínas vitais (lamininas e gelsolinas) e ativam proteoliticamente enzimas latentes, como as nucleases, iniciando e executando a fase de degradação celular e as mudanças morfológicas típicas da célula⁷.

Três vias celulares de sinalização distintas têm sido descritas como responsáveis pelo início da apoptose: via extrínseca ou de sinalização externa, via intrínseca ou mitocondrial e a terceira via, ativada pelo fator de indução de apoptose (AIF)⁸.

Na via extrínseca, o processo é ativado por estímulos externos por meio de ligantes a receptores de morte específicos presentes na membrana celular, que recrutam proteínas adaptadoras, ativando assim, a cascata de caspases, culminando na morte celular⁹. Esses receptores de morte pertencem à família do receptor do fator de necrose tumoral (TNF), que compreende o receptor TNF-1 (TNF-R1), Fas (Apo-1 ou CD95), receptor de morte DR3, 4 (TRAIL R1) e DR5 (TRAIL R2)⁹. A ligação desses ligantes a seus respectivos receptores de morte promove o recrutamento de proteínas adaptadoras (FADD com o Fas; TRADD com TNF-R1, RIP ou ambos), que juntamente com a forma inativa da caspase-8 forma um complexo de sinalização de indução de morte (DISC). Este complexo ativa a caspase-8, iniciando-se assim, a cascata de caspases, que por sua vez ativa as caspases efetoras 3, 6 e 7 e resultam na execução da morte celular apoptótica⁹.

A via intrínseca ou mitocondrial ocorre pela ativação por estresse de proteínas intracelulares específicas com a participação dos membros da família de proteínas Bcl-2, considerados os mediadores essenciais de sobrevivência e apoptose celular⁹. A família de proteínas Bcl-2 é composta por cerca de 15 membros com função pró-apoptótica (Bax, Bak, Bad, Bim, Bid, Bik, Blk e Hrk) e anti-apoptótica (Bcl-2, Bcl-w, Bcl-xl, Mcl-1, Bfl-1 e BHRF)³. Essas proteínas localizam-se na membrana mitocondrial externa, no envelope nuclear e no retículo endoplasmático das células. Os membros com função anti-apoptótica estabilizam a membrana da mitocôndria, enquanto que os pró-apoptóticos, permeabilizam e induzem a liberação do citocromo c, que na presença de dATP forma um complexo com o fator 1 de ativação da proteína apoptótica (APAF-1) e caspase-9, ativando a cascata de caspases efetoras, como a caspase-3^{3,5}.

A terceira via de sinalização também dependente da mitocôndria, mas independente das caspases, ocorre pela liberação de fatores apoptogênicos, como citocromo c, fator de indução da apoptose (AIF)¹⁰, ATP, proteínas *heat shock* e DIABLO/Smac (direct IAP-binding protein with low p1/second mitochondria-derived activator of caspases), um inibidor de IAPs (proteínas inibidoras de apoptose), neutralizando sua atividade anti-apoptótica^{11, 12}.

As células ainda podem sofrer apoptose em resposta a sinais internos, incluindo lesões no DNA, com a participação de genes envolvidos no controle do ciclo celular, como o gene supressor de tumor TP53¹³. Esse gene, eleito como o “guardião do genoma”, desempenha papel importante na manutenção da integridade do DNA e na indução de apoptose, eliminando, de forma seletiva, as células danificadas, e protegendo o organismo do desenvolvimento de neoplasias¹⁴.

A detecção de células apoptóticas pode ser baseada na sua morfologia, em fases mais tardias do processo, na observação do DNA fragmentado por técnicas bioquímicas e histoquímicas, e por métodos mais específicos como TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)- mediated dUTP-biotin nick-end labelling)^{6,15}, eletroforese de DNA em gel de agarose, métodos de coloração com fluorocromos, citometria de fluxo e detecção de proteínas expressadas e ativadas seletivamente ou fragmentos de proteínas gerados durante o processo apoptótico¹⁶. A baixa especificidade de alguns dos métodos atuais justifica o uso de mais de um deles, combinando-se uma ou mais técnicas bioquímicas com as características morfológicas, tornando a detecção das células apoptóticas mais fácil e menos dependente da interpretação subjetiva.

APOPTOSE EM LESÕES GÁSTRICAS

A proliferação celular e a apoptose são eventos essenciais envolvidos na renovação celular do tecido epitelial. Portanto, a homeostase do tecido é mantida pelo equilíbrio entre a taxa de perda celular (apoptose) e a taxa de proliferação celular. Na mucosa gástrica, porém, este equilíbrio pode ser afetado pela infecção com a bactéria *Helicobacter pylori*, ocasionando várias doenças gastroduodenais¹⁷.

A *H. pylori*, uma bactéria Gram-negativa classificada como um carcinógeno tipo I em humanos, é o principal agente etiológico de doenças gástricas severas, incluindo úlcera péptica, gastrite ativa crônica, e eleva o risco em seis vezes do desenvolvimento de adenocarcinoma gástrico¹⁸. Dois principais mecanismos têm sido propostos para a carcinogênese gástrica induzida pela *H. pylori*: a proliferação celular elevada e os danos oxidativos nas células epiteliais gástricas¹⁹.

A carcinogênese gástrica é caracterizada por um processo de múltiplas etapas, associada com uma série de mudanças histológicas pré-malignas, iniciando-se a partir de uma gastrite ativa crônica freqüentemente infectada pela bactéria *H. pylori* e progredindo por meio de uma seqüência patogênica para gastrite atrófica crônica, metaplasia intestinal, displasia e carcinoma²⁰. Nas doenças gástricas inflamatórias, a *H. pylori* estimula tanto a proliferação celular como a apoptose, possivelmente em resposta aos danos celulares induzidos pela bactéria^{21,22}. A *H. pylori* tem sido freqüentemente associada tanto com apoptose aumentada²¹⁻²⁷, não alterada²⁸, ou até mesmo diminuída²⁹. Após anos de colonização pela bactéria, os casos em que não há um equilíbrio entre a proliferação celular elevada com aumento equivalente na apoptose podem reter células com mutações, assim aumentando o risco de câncer gástrico³⁰.

A associação entre infecção pela *H. pylori* e a proliferação celu-

lar elevada em lesões da mucosa gástrica é um assunto ainda em discussão. Apesar da atividade de urease da *H. pylori* e a infiltração de leucócitos terem um efeito mitogênico, o aumento da proliferação celular gástrica também ocorre independentemente da infecção por essa bactéria. Nardone et al.²⁴ observaram taxa proliferativa aumentada no epitélio gástrico em pacientes com gastrite crônica e câncer gástrico independentemente da infecção pela *H. pylori*, enquanto outros estudos têm enfatizado que essa bactéria induz elevação da taxa proliferativa²⁵. Em nível molecular, é postulado que a indução de resposta mitogênica pela *H. pylori* ocorre pela ativação de receptores de fatores de crescimento tirosina-quinase e pela modificação de transdução de sinais na célula por meio de translocação de proteínas bacterianas³¹.

Em gastrite *H. pylori* positiva, com proliferação epitelial aumentada e pouca ou nenhuma morte celular necrótica, Moss et al.²¹ sugeriram que o aumento da proliferação celular deveria ser acompanhada pela apoptose epitelial também aumentada, que por sua vez, atua como um estímulo para uma resposta proliferativa compensatória e potencialmente pré-neoplásica.

Um aumento moderado a acentuado de células apoptóticas (variação de 3 a 16%) tem sido relatado em gastrite crônica frequentemente associada com atrofia glandular e infecção pela *H. pylori*^{21-25,32,33}, ocorrendo principalmente nos epitélios foveolar e glandular³²⁻³⁴, regiões em que há uma maior colonização pela bactéria e inflamação epitelial³³. A variação do índice apoptótico pode ser devido à contagem de diferentes tipos celulares (epitélios foveolar, glandular, ou ambos) e diferentes fatores de virulência das cepas *H. pylori*²². Além disso, tem sido relatada uma correlação positiva entre o índice apoptótico e o grau de atrofia glandular, indicando que o aumento de apoptose pode ter uma função importante no desenvolvimento de atrofia glandular³⁵. No entanto, os resultados não são concordantes, pois enquanto Anti et al.²⁶ observaram índices apoptóticos similares em gastrite crônica infectada ou não pela *H. pylori* e não encontraram correlação dos índices apoptóticos com o grau de inflamação, Wagner et al.²⁷ detectaram uma atividade apoptótica reduzida seguida por proliferação celular aumentada na presença da *H. pylori*.

Em outras lesões, como úlcera gástrica e duodenal, metaplasia intestinal e no adenocarcinoma gástrico infectadas pela *H. pylori*, também têm sido descrito o aumento de apoptose^{21,23,26,27,36-40}.

Em úlcera, a infecção pela bactéria parece bloquear o mecanismo fisiológico inibitório normal do antro gástrico em células que liberam ácido e gastrina, resultando na liberação aumentada de gastrina e inibição prejudicada da secreção de ácido gástrico³⁶. A erradicação completa da *H. pylori* pode levar a uma redução significativa do índice apoptótico em úlcera duodenal^{21,36} e úlcera gástrica³⁷, apesar de terem sido constatados índices apoptóticos significativamente elevados em pacientes com úlcera gástrica após a erradicação da bactéria²³.

Na metaplasia intestinal, a apoptose ocorre mais frequentemente na zona basal das glândulas do tipo incompleta do que completa, presumivelmente devido a eliminação de células com danos no DNA^{22,32}. Após a erradicação da bactéria, WAMBURA et al.³⁹ relataram diminuição nos índices de proliferação celular e apoptose, podendo desempenhar um papel importante na prevenção de transformação maligna na mucosa metaplásica.

No adenocarcinoma gástrico, é observado um aumento gradual da atividade proliferativa e ocorrência constante de apoptose, que conseqüentemente exerce uma função importante no desenvolvimento de atrofia glandular, presente nesses tumores³⁵.

Nesse tipo de neoplasia, há relatos de índices apoptóticos aumentados^{27,34,35,38,40}, que parecem ocorrer mais frequentemente em adenocarcinoma bem diferenciado (tipo intestinal) que naqueles pobremente diferenciados (tipo difuso)³².

O mecanismo pelo qual a infecção pela *H. pylori* promove a apoptose ainda não está completamente esclarecido e pode estar relacionado tanto com fatores bacterianos como com a resposta do hospedeiro que podem estar envolvidos na indução de apoptose⁴¹.

Como parte da resposta do hospedeiro, a produção de várias citocinas, como fator de necrose tumoral- α , interferon- γ , interleucina-2 e interleucina-1, podem ativar a apoptose induzida pela *H. pylori*^{42,43}. Dentre os fatores bacterianos, Moss et al.²¹ propuseram um efeito direto da bactéria, pela liberação de produtos endógenos citotóxicos. Outros fatores são a amônia gerada durante a quebra da uréia pela urease produzida pela *H. pylori* e a redução do ascorbato, um antioxidante gástrico^{36,44}. Ainda deve ser considerada a hipergastrinemia associada à *H. pylori* e até mesmo uma resposta inflamatória induzida pela bactéria, alterando a cinética celular epitelial²². É também conhecido que a bactéria é responsável pela formação intracelular de intermediários de nitrogênio reativo⁴⁵, espécies de oxigênio reativo associado com adutos de DNA⁴⁶ e nível aumentado de óxido nítrico sintase induzível (iNOS), responsável pela formação endógena de nitrito, compostos nitrosos^{30,47} e desaminação do DNA. Esses fatores podem contribuir para o aumento de danos no DNA, a apoptose e conseqüente aumento da proliferação celular.

Há também indicações de que a *H. pylori* induz apoptose no epitélio gástrico pela repressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2, liberação do citocromo-c no citosol e ativação da caspase-9⁴⁸ e que promove o aumento da expressão das proteínas c-myc e pró-apoptóticas em lesões gástricas pré-cancerosas⁴⁹. Conforme Ashktorab et al.⁵⁰, durante a apoptose induzida pela *H. pylori*, a proteína Bax é translocada para a mitocôndria, que sofre despolarização e fragmentação, desencadeando todo o processo apoptótico.

Alguns produtos bacterianos que determinam patogenicidade podem ser diretamente responsáveis pela indução de apoptose, incluindo as proteínas CagA (*Cytotoxin-associated gene*), um marcador da ilha de patogenicidade²⁶, e VacA (*vacuolating cytotoxin*), associada com citotoxinas⁵¹. A toxina VacA induz a apoptose via mitocondrial devido a liberação do citocromo c alterando a permeabilidade da membrana mitocondrial⁵². A infecção pela linhagem de *H. pylori* CagA+ aumenta o risco de atrofia e metaplasia intestinal, possivelmente em conseqüência do potencial inflamatório aumentado demonstrado por essa linhagem²⁴. Contudo, alguns estudos não relataram uma associação entre a linhagem CagA e a apoptose. Por exemplo, Von Herbay; Rudi²² verificaram que a apoptose não estava aumentada em relação à proliferação celular em pacientes infectados pelas linhagens CagA+ VacA s1a da *H. pylori*.

Vários estudos têm constatado uma diminuição da apoptose após erradicação da *H. pylori*^{21,22,24,36,53}, evidenciando que o aumento da apoptose em infecção *H. pylori* ativa é um fenômeno reversível. A erradicação da *H. pylori* em pacientes com gastrite crônica foi acompanhada pela redução da proliferação celular^{24,53}, redução da atividade da gastrite, regressão ou desaparecimento da atrofia e metaplasia completa⁵⁴ e desaparecimento de marcadores de instabilidade genômica, antes presentes²⁴. Assim a erradicação da bactéria pode ser útil para conseguir a reversão completa de danos oxidativos prevenindo as alterações

celulares que podem disparar o processo carcinogênico¹⁹.

CONSIDERAÇÃO FINAL

A regulação da apoptose é um dos alvos atrativos para a intervenção terapêutica em algumas doenças consideradas previamente incuráveis, como a AIDS e o câncer, em especial no controle das lesões gástricas pré-malignas e malignas. No caso das neoplasias, a indução da apoptose pode atuar no controle da progressão tumoral e de metástases, dado que compreende o mecanismo principal de regressão tumoral induzida por quimioterapia⁵⁵. As terapias recentes são baseadas na utilização de drogas que atuam nas vias pró-apoptóticas como ativação das caspases e restauração da função da proteína p53, ou nas vias pró-sobrevivência como regulação da família de genes *Bcl-2*^{56,57}. Por exemplo, a expressão dessas proteínas e a atividade anti-apoptótica podem ser inibidas com tecnologia antisense ou por antagonistas naturais, como Bax, ou ainda, por drogas que se ligam nos sítios ativos dessas proteínas^{5,58}. Uma das tentativas para o tratamento do câncer com a terapia antisense, consiste no bloqueio dos membros da família de proteínas inibidoras da apoptose (cIAP1, cIAP2, NAIP e survivinas), que constitui um grupo de supressores apoptóticos ligado ao cromossomo X, responsáveis pela inibição do processamento das caspases, assim conferindo proteção às células contra agentes anti-câncer e a outros estímulos apoptóticos⁵⁹.

O entendimento mais completo dos mecanismos moleculares da *H. pylori* nos processos de proliferação celular e apoptose poderá trazer informações importantes para o controle da transformação maligna do epitélio gástrico.

Referências bibliográficas

1. Que FG, Gores GJ. Cell death apoptosis: basic concepts and disease relevance for the gastroenterologist. *Gastroenterology* 1996 Apr.;110(4):1238-43.
2. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972 Aug.;26(4):239-57.
3. Dlamini Z, Mbita Z, Zungu M. Genealogy, expression and molecular mechanisms in apoptosis. *Pharmacol Ther* 2004 Jan.;101(1):1-15.
4. Hall PA. Assessing apoptosis: a critical survey. *Endocr Relat Cancer* 1999 Mar.;6(1):3-8.
5. Jäättelä M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Exp Cell Res* 1999 Apr.; 248(1):30-43.
6. Valen G. The basic biology of apoptosis and its implications for cardiac function and viability. *Ann Thorac Surg* 2003 Feb.;75(2):S656-60.
7. Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res* 2000 Feb.;45(3):528-37.
8. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CY, et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 2001 Mar.; 410(6828):549-54.
9. Ashe PC, Berry MD. Apoptotic signaling cascades. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003 Apr.;27(2):199-214.
10. Hong SJ, Dawson TM, Dawson VL. Nuclear and mitochondrial conversations in cell death: *PARP-1* and *AIF* signaling. *Trends Pharmacol Sci* 2004 May;25(5):259-64.
11. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000 Jul.; 102(1):33-42.
12. Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell* 2000 Jul.;102(1):43-53.
13. Slee EA, O'Connor DJ, Lu X. To die or not to die: how does p53 decide? *Oncogene* 2004 Apr.;23(13):2809-18.

14. Hofseth LJ, Hussain SP, Harris CC. p53: 25 years after its discovery. *Trends Pharmacol Sci* 2004 Apr.;25(4):177-81.
15. Gavrieli Y, Sherman Y, Bem-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992 Nov.;119(3):493-501.
16. Otsuki Y, Li Z, Shibata MA. Apoptotic detection methods—from morphology to gene. *Prog Histochem Cytochem* 2003;38(3):275-339.
17. Yang Y, Deng CS, Peng JZ, Wong BC, Lam SK, Xia HH. Effect of *Helicobacter pylori* on apoptosis related genes in gastric cancer cells. *Mol Pathol* 2003 Feb.;56(1):19-24.
18. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Helicobacter pylori*. In: Schistosomes, liver flukes, and *Helicobacter pylori*: views and expert opinions of an IARC Working Group of the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: IARC; 1994. p.177-240.
19. De Luca A, Iaquinto G. *Helicobacter pylori* and gastric diseases: a dangerous association. *Cancer Lett* 2004 Sep;213(1):1-10.
20. Tahara E. Genetic pathways of two types of gastric cancer. *IARC Sci Publ* 2004; (157):327-49.
21. Moss SF, Calam J, Agarwal B, Wang S, Holt PR. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. *Gut* 1996 Apr.;38(4):498-501.
22. von Herbay A, Rudi J. Role of apoptosis in gastric epithelial turnover. *Microsc Res Tech* 2000 Mar.;48(5):303-11.
23. Hirasawa R, Tatsuta M, Iishi H, Yano H, Baba M, Uedo N, et al. Increase in apoptosis and decrease in ornithine decarboxylase activity of the gastric mucosa in patients with atrophic gastritis and gastric ulcer after successful eradication of *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1999 Sep.;94(9):2398-402.
24. Nardone G, Staibano S, Rocco A, Mezza E, D'Armiento FP, Insabato L, et al. Effect of *Helicobacter pylori* infection and its eradication on cell proliferation, DNA status, and oncogene expression in patients with chronic gastritis. *Gut* 1999 Jun.;44(6):789-99.
25. Lee KM, Lee DS, Yang JM, Ahn BM, Lee EH, Yoo JY, et al. Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cell kinetics and expression of apoptosis-related proteins in gastric carcinogenesis. *Korean J Gastroenterol* 2003 Jul.;42(1):12-9.
26. Leite KR, Darini E, Canavez FC, Carvalho CM, Milterdorf CA, Camara-Lopes LH. *Helicobacter pylori* and *cagA* gene detected by polymerase chain reaction in gastric biopsies: correlation with histological findings, proliferation and apoptosis. *São Paulo Med J* 2005;123(3):113-8.
27. Shiotani A, Iishi H, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Merchant JL. Epithelial cell turnover in relation to ongoing damage of the gastric mucosa in patients with early gastric cancer: increase of cell proliferation in paramalignant lesions. *J Gastroenterol* 2005;40(4):337-44.
28. Anti M, Armutz A, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Importance of changes in epithelial cell turnover during *Helicobacter pylori* infection in gastric carcinogenesis. *Gut* 1998 Jul.;43 Suppl 1:S27-S32.
29. Wagner S, Beil W, Westermann J, Logan RP, Bock CT, Trautwein C, et al. Regulation of gastric epithelial cell growth by *Helicobacter pylori*: evidence for a major role of apoptosis. *Gastroenterology* 1997 Dec.;113(6):1836-47.
30. Chang CS, Chen WN, Lin HH, Wu CC, Wang CJ. Increased oxidative DNA damage, inducible nitric oxide synthase, nuclear factor kappaB expression and enhanced antiapoptosis-related proteins in *Helicobacter pylori*-infected non-cardiac gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2004 Aug.;10(15):2232-40.
31. Naumann M, Crabtree JE. *Helicobacter pylori*-induced epithelial cell signalling in gastric carcinogenesis. *Trends Microbiol* 2004 Jan.;12(1):29-36.
32. Ishida M, Gomyo Y, Tatebe S, Ohfuji S, Ito H. Apoptosis in human gastric mucosa, chronic gastritis, dysplasia and carcinoma: analysis by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labelling. *Virchows Arch* 1996 Jul.;428(4-5):229-35.
33. Steininger H, Faller G, Dewald E, Brabletz T, Jung A, Kirchner T. Apoptosis in chronic gastritis and its correlation with antigastric autoantibodies. *Virchows Arch* 1998 Jul.; 433(1):13-8.

34. Jang TJ, Kim JR. Proliferation and apoptosis in gastric antral epithelial cells of patients infected with *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol* 2000;35(4):265-71.
35. Yoshimura T, Shimoyama T, Tanaka M, Sasaki Y, Fukuda S, Munakata A. Gastric mucosal inflammation and epithelial cell turnover are associated with gastric cancer in patients with *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Pathol* 2000 Jul.;53(7):532-6.
36. Kohda K, Tanaka K, Aiba Y, Yasuda M, Miwa T, Koga Y. Role of apoptosis induced by *Helicobacter pylori* infection in the development of duodenal ulcer. *Gut* 1999 Apr.;44(4):456-62.
37. Satoh K, Kawata H, Tokumaru K, Kumakura Y, Ishino Y, Kawakami S, et al.. Change in apoptosis in the gastric surface epithelium and glands after eradication of *Helicobacter pylori*. *Dig Liver Dis* 2003 Feb.;35(2):78-84.
38. Shiotani A, Iishi H, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Merchant JL. Epithelial cell turnover in relation to ongoing damage of the gastric mucosa in patients with early gastric cancer: increase of cell proliferation in paramalignant lesions. *J Gastroenterol* 2005 Apr.; 40(4):337-44.
39. Wambura C, Aoyama N, Shirasaka D, Kuroda K, Watanabe Y, Miki I, et al. Cell kinetic balance in gastric mucosa with intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication: 2-year follow-up study. *Dig Liver Dis* 2004 Mar.;36(3):178-86.
40. Forones NM, Carvalho AP, Giannotti-Filho O, Lourenço LG, Oshima CT. Cell proliferation and apoptosis in gastric cancer and intestinal metaplasia. *Arq Gastroenterol* 2005;42(1):30-4.
41. Xia HH, Talley NJ. Apoptosis in gastric epithelium induced by *Helicobacter pylori* infection: implications in gastric carcinogenesis. *Am J Gastroenterol* 2001 Jan.;96(1):16-26.
42. Fan X, Crowe SE, Behar S, Gunasena H, Ye G, Haerberle H, et al. The effect of class II major histocompatibility complex expression on adherence of *Helicobacter pylori* and induction of apoptosis in gastric epithelial cells: a mechanism for T helper cell type 1-mediated damage. *J Exp Med* 1998 May;187(10):1659-69.
43. Wu YY, Tsai HF, Lin WC, Chou AH, Chen HT, Yang JC, et al. *Helicobacter pylori* enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in human gastric epithelial cells. *World J Gastroenterol* 2004 Aug.;10(16):2334-9.
44. Suzuki H, Masaoka T, Nomura S, Hoshino Y, Kurabayashi K, Minegishi Y, et al. Current consensus on the diagnosis and treatment of *H. pylori*-associated gastroduodenal disease. *Keio J Med* 2003 Sep.;52(3):163-73.
45. Pakodi F, Abdel-Salam OM, Debreceni A, Mozsik G. *Helicobacter pylori*. One bacterium and a broad spectrum of human disease! An overview. *J Physiol Paris* 2000; 94(2):139-52.
46. Smoot DT, Elliott TB, Verspaget HW, Jones D, Allen CR, Vernon RG, et al. Influence of *Helicobacter pylori* on reactive oxygen-induced gastric epithelial cell injury. *Carcinogenesis* 2000 Nov.;21(11):2091-5.
47. Li LG, Xu HM. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine and apoptosis in gastric adenocarcinomas and their correlation with a poor survival. *World J Gastroenterol* 2005 May;11(17):2539-44.
48. Potthoff A, Ledig S, Martin J, Jandl O, Cornberg M, Obst B, et al. Significance of the caspase family in *Helicobacter pylori* induced gastric epithelial apoptosis. *Helicobacter* 2002 Dec.;7(6):367-77.
49. Zhan N, Xiong YY, Lan J, Wang BC, Tian SF, Yu SP. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and expression of c-myc, Bcl-2, and Bax protein in different gastric mucosa lesions. *Ai Zheng* 2003 Oct.;22(10):1034-7.
50. Ashktorab H, Frank S, Khaled AR, Durum SK, Kifle B, Smoot DT. Bax translocation and mitochondrial fragmentation induced by *Helicobacter pylori*. *Gut* 2004 Jun.;53(6):805-13.
51. Boquet P, Ricci V, Galmiche A, Gauthier NC. Gastric cell apoptosis and *H. pylori*: has the main function of *VacA* finally been identified? *Trends Microbiol* 2003 Sep.;11(9):410-3.
52. Willhite DC, Blanke SR. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin enters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrial membrane permeability changes correlated to toxin channel activity. *Cell Microbiol* 2004 Feb.;6(2):143-54.
53. Ohkura Y, Furihata T, Kawamata H, Tabuchi M, Kubota K, Terano A, et al. Evaluation of cell proliferation and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis using an image analysis processor. *Gastric Cancer* 2003;6(1):49-54.
54. Ley C, Mohar A, Guarner J, Herrera-Goepfert R, Figueroa LS, Halperin D, et al. *Helicobacter pylori* eradication and gastric preneoplastic conditions: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004 Jan.;13(1):4-10.
55. Parton M, Krajewski S, Smith I, Krajewska M, Archer C, Naito M, et al. Coordinate expression of apoptosis-associated proteins in human breast cancer before and during chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2002 Jul.;8(7):2100-8.
56. Itoh M, Chiba H, Noutomi T, Takada E, Mizuguchi J. Cleavage of Bax-alpha and Bcl-x (L) during carboplatin-mediated apoptosis in squamous cell carcinoma cell line. *Oral Oncol* 2000;36(3):277-85.
57. Senderowicz AM. Targeting cell cycle and apoptosis for the treatment of human malignancies. *Curr Opin Cell Biol* 2004;16(6):670-8.
58. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin* 2005;55(3):178-94.
59. Stahel RA, Zangemeister-Wittke U. Antisense oligonucleotides for cancer therapy – an overview. *Lung Cancer* 2003 Aug.;41 Suppl 1:S81-8.

Correspondência:

Ana Elizabete Silva
 Departamento de Biologia UNESP - Campus de São José do Rio Preto
 Rua Cristóvão Colombo, 2265
 15054-000 - São José do Rio Preto - SP
 Tel. (17)3221-2384 Fax: (17)3221-2390
 e-mail: anabete@ibilce.unesp.br
