

O PAPEL DAS MUCINAS GÁSTRICAS NA INFECÇÃO POR *HELICOBACTER PYLORI*

THE ROLE OF GASTRIC MUCINS IN *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION

TEREZINHA MARQUES¹; CELSO ALBUQUERQUE REIS²; ANA MARGARIDA M. F. NOGUEIRA¹

RESUMO

Mucinas são glicoproteínas, agentes protetores de mucosas e potenciais moléculas de adesão para microrganismos. A bactéria *H. pylori* coloniza o muco gástrico e adere-se ao epitélio por meio de adesinas que reconhecem receptores nas células superficiais. As interações de adesina-receptor contribuem para a cronicidade da infecção, que está associada à patogênese de gastrite, doença péptica e câncer gástrico. MUC5AC e MUC6 são mucinas secretadas respectivamente no epitélio superficial/foveolar e nas glândulas da mucosa gástrica. MUC5AC vem sendo apontada como molécula receptora de *H. pylori*, enquanto para MUC6 é atribuído papel na defesa contra o microrganismo. O conhecimento da expressão dessas mucinas na mucosa gástrica infectada por *H. pylori* pode contribuir para a compreensão de aspectos de adesão e patogênese da infecção por *H. pylori*. Palavras-chave: Mucina Gástrica; *Helicobacter pylori*; Infecções por *Helicobacter*/ complicações

INTRODUÇÃO

Mucinas são glicoproteínas amplamente distribuídas na natureza, componentes do gel de muco e atuantes em interações parasita-hospedeiro^{1,4}. No estômago, as propriedades do muco dependem da composição das mucinas^{5,6}, tanto na mucosa normal quanto na patogênese de lesões inflamatórias e neoplásicas. Alterações em qualquer etapa dos eventos de síntese, glicosilação e secreção das mucinas podem determinar desvios na sua função⁵. Algumas dessas alterações são observadas no curso da infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)⁷⁻¹⁰.

H. pylori é uma bactéria espiralada, Gram-negativa, microaerófila, presente no estômago em cerca de metade da população mundial, sobretudo nos países em desenvolvimento. A infecção é tipicamente adquirida na infância, porém as doenças associadas ocorrem geralmente na vida adulta. A bactéria atua na patogênese da gastrite crônica, doença péptica, carcinoma e linfoma gástricos. A colonização e a evolução da infecção dependem do hospedeiro, do microrganismo e do ambiente, por mecanismos ainda não esclarecidos^{4,10}.

H. pylori coloniza o muco e adere-se ao epitélio gástrico por meio de adesinas que reconhecem receptores nas células superficiais. As interações de adesina-receptor contribuem para a adaptação do microrganismo e cronicidade da infecção¹¹. Há evidências de adesinas na porção lipopolissacarídica (LPS) de *H. pylori* e de mucinas no papel de receptores epiteliais^{2,3,12}, entretanto, a fisiopatologia da infecção tem vários aspectos obscuros quanto ao fenômeno da adesão. Algumas dúvidas quanto aos

fatores do hospedeiro referem-se às mucinas no papel de receptores, tais como o significado das variações individuais e eventuais alterações na sua expressão, a relação entre a expressão de receptores e a intensidade da gastrite e sua influência no tipo de doença desenvolvida. O conhecimento dos mecanismos de atuação das mucinas pode contribuir para o entendimento de aspectos ligados à adesão e patogênese da infecção por *H. pylori*.

Estrutura molecular das mucinas

Mucinas são glicoproteínas de elevado peso molecular, altamente glicosiladas. As cadeias de carboidratos são acopladas pela ligação de tipo –O entre N-Acetil-Galactosamina e o átomo de oxigênio dos aminoácidos serina ou treonina. Os carboidratos O-glicosilados são formados por três partes: *core*, *backbone* ou *núcleo* e *região periférica*. O *core* é constituído por resíduo de N-Acetil-Galactosamina, ligado a serina e treonina. Pode-se alongar, originando a região *backbone* com dois tipos de estrutura básica: tipo 1 (Galactose $\beta 1 \rightarrow 3$ N-Acetil-Glicosamina) e tipo 2 (Galactose $\beta 1 \rightarrow 4$ N-Acetil-Glicosamina). Ambas as estruturas podem ser ramificadas e terminadas por açúcares periféricos como fucose, galactose, N-acetil galactosamina, N-acetil-glicosamina, resíduos de sulfato e ácido siálico¹.

A extensão das cadeias e a composição dos açúcares são variáveis. As características funcionais dependem da O-glicosilação⁶, que é dividida em três etapas¹: 1. **iniciação** – em que os açúcares se ligam às proteínas; 2. **alongamento** – os açúcares se ligam à região *backbone*; 3. **terminação** – os açúcares periféricos são adicionados. A glicosilação é responsável pela forma das moléculas, pela densidade e viscosidade do muco⁹. Modificações na síntese e secreção de apomucinas e/ou nos eventos de glicosilação atuam na patogênese de lesões gástricas inflamatórias e neoplásicas, determinando diferenças antigênicas, gerando novos carboidratos ou expondo a apomucina^{1,5,13}.

¹ Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, UFMG

² Instituto de Patologia e Imunologia Molecular, Universidade do Porto, Porto, Portugal

Trabalho realizado no Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, UFMG

Correspondência:

Ana Margarida M. F. Nogueira

APM, F. Medicina-UFMG

Av. Alfredo Balena, 190, sl 5019, Belo Horizonte, Minas Gerais

CEP 30130-100

anog@medicina.ufmg.br

Origem, classificação e funções das mucinas

Os genes das mucinas humanas são representados pelo símbolo *MUC* com o número de ordem na clonagem. Já foram identificados 21 membros atribuídos à família desses genes.⁽¹⁴⁾ As mucinas têm diversas origens e classificações, são produzidas em tecidos epiteliais e não epiteliais e classificadas por formarem gel, serem ácidas ou neutras ou mostrarem predomínio de fucose e ácido siálico^{1,5}. Fazem parte da defesa inata e adaptativa frente a enzimas proteolíticas, variações de pH, agressões mecânicas, químicas e biológicas, além de mediar processos de crescimento e diferenciação celular. De outra forma, participam de interações com microrganismos patogênicos e atuam nos mecanismos de inflamação e metástases¹.

As mucinas epiteliais dividem-se em dois tipos: 1) ligadas à membrana – monoméricas e com domínio hidrofóbico, atuam em processos de adesão e anti-adesão a outras moléculas; 2) secretadas – poliméricas, formadoras ou não formadoras de gel, são predominantemente protetoras¹.

Produção e características gerais das mucinas gástricas

A expressão gástrica de mucinas dá-se no início da vida fetal, quando dois tipos podem ser expressos em uma única variedade celular⁶. Com o desenvolvimento, a mucosa passa a expressar três tipos de mucinas em diferentes células e regiões – MUC1, MUC5AC e MUC6 – com tamanho e padrão de glicosilação distintos¹³. Em estudo recente, nosso grupo demonstrou que a expressão de MUC6 associou-se à idade em uma série de crianças, separadas em quatro grupos etários¹⁵. A imuno-reatividade para MUC6 foi mais frequente naquelas acima de 12 anos e houve correlação positiva entre a idade das crianças e a intensidade da expressão de MUC6.

MUC1 é ligada à membrana celular em células superficiais e foveolares do antro e corpo. MUC5AC é secretada, neutra e expressa-se no epitélio superficial e foveolar em todas as regiões da mucosa gástrica¹⁶. MUC6 é secretada, ácida e expressa-se nas glândulas antrais e cárdicas e nas células mucossecretoras da mucosa oxíntica^{13,17}. A expressão de MUC5AC e MUC6 em locais diferentes parece se relacionar ao padrão de glicosilação, definido pela seqüência de aminoácidos das apomucinas e/ou pelas glicosiltransferases específicas de cada célula¹³.

À microscopia eletrônica, os filamentos das mucinas gástricas superficiais e glandulares formam camadas reticulares e bandas paralelas. Há predomínio do padrão reticular e os arranjos são semelhantes na mucosa antral e oxíntica, mas não são vistos nos grânulos secretórios. As mucinas glandulares no antro formam camadas mais espessas do que no fundo gástrico¹⁸. Algumas características das mucinas gástricas estão resumidas na Tabela 1.

Mucinas gástricas e *Helicobacter pylori*

Alguns parasitas produzem ou interagem com glicoproteínas do hospedeiro, o que influencia a colonização e a evolução das infecções¹. As variações individuais e as alterações na expressão normal das mucinas parecem interferir nos mecanismos de inflamação gástrica, ulcero-gênese e carcinogênese. O papel específico das mucinas gástricas na infecção por *H. pylori* e em algumas lesões malignas e precursoras de câncer no estômago ainda não está definido. Também não está esclarecido o papel da infecção na patogênese da úlcera péptica, interferindo na síntese das glicoproteínas^{8,9}, induzindo o colapso do muco¹⁹⁻²¹ ou, indiretamente, provocando reação inflamatória do hospedeiro²². Os trabalhos geralmente analisam a expressão de mucinas em biópsias antrais e não fornecem uma idéia global do padrão gástrico de expressão²³. Poucos estudos estudaram diferenças topográficas na expressão de mucinas na vigência da infecção, basicamente restritas às regiões do antro e corpo^{5,7,10,18,23,24}.

Na infecção por *H. pylori*, as alterações na expressão das mucinas foram relacionadas com a síntese da apomucina^{2,8,17,25}, com o processo de glicosilação^{5,9} e com o mecanismo de secreção²². Há resultados controversos *in vivo*^{7,17,19,21,25} e *in vitro*^{8,9,20,22} provavelmente devido a diferenças metodológicas.

Há trabalhos em que as mucinas são designadas pela característica que lhes confere o método utilizado. Assim, usando técnicas histoquímicas em biópsias gástricas de adultos, Bravo e Correa^{24,10} sugeriram que mucinas neutras favorecem a colonização e que mucinas ácidas, exceto as sulfomucinas, são tóxicas ao microrganismo. Hidaka *et al.*¹⁸, usando técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas e microscopia eletrônica, observaram que o muco

Tabela 1 - Características de MUC1, MUC5AC e MUC6, expressas no estômago.

Mucina	Tr	Função	Citocalização
MUC1 membrana	20	Adesão celular	Epitélio superficial: todas as regiões
MUC5AC gel	8	Proteção da mucosa Adesão a microrganismos	Epitélio superficial/ foveolar: todas as regiões
MUC6 gel	169	Proteção da mucosa Defesa contra microrganismos	Epitélio glandular: todas as regiões Epitélio mucossecretor: mucosa oxíntica

Tr = tandem repeat

possui camadas com estruturas diferentes, que mucinas superficiais atraem *H. pylori* e mucinas glandulares dificultam sua movimentação. Ichikawa *et al.*²⁶ analisaram bioquimicamente a composição do suco gástrico de adultos infectados e notaram redução de mucinas ácidas após a erradicação da bactéria.

Com experimentos *in vitro*, Kawakubo *et al.*²⁷ tentaram explicar a ausência de colonização na profundidade da mucosa, sugerindo que MUC5AC estimula o crescimento bacteriano e as mucinas expressas nas glândulas têm atividade antibiótica contra algumas amostras de *H. pylori*. Nosso grupo estudou comparativamente a expressão de MUC5AC e MUC6 em crianças e adultos, normais e infectados por *H. pylori*¹⁵. Nas duas séries, a expressão de MUC5AC foi mais intensa nos pacientes *H. pylori* positivos, enquanto a expressão de MUC6 foi mais intensa nos adultos infectados, mas não nas crianças, sugerindo que o suposto papel bactericida atribuído a MUC6 seja exclusivo de adultos.

A ação de enzimas bacterianas foi mencionada em casos de redução no conteúdo total ou de algum tipo de mucina gástrica. Kawano *et al.*⁷ sugeriram que a amônia, formada sob a ação da urease bacteriana, prejudica o metabolismo energético celular, principalmente na região antral. Sidebotham *et al.*²⁰ demonstraram *in vitro* que a urease eleva o pH do muco e desestabiliza o tampão carbonato-bicarbonato, fragmentando as glicoproteínas. Ao contrário, Markesich *et al.*¹⁹ descreveram aumento da viscosidade do muco gástrico de pacientes infectados e questionaram a degradação do muco na gênese da doença péptica. Newton *et al.*²¹ consideraram que as alterações no muco seriam consequência da ação conjunta de fatores bacterianos e da resposta inflamatória do hospedeiro. Outros observaram aumento na expressão de MUC6 na infecção, com técnicas imunoistoquímicas^(2,10,23,25,28), retornando ao normal após tratamento^{17,25}.

Considerando a função protetora do muco e a estrutura glicoprotéica das mucinas, importa esclarecer o papel de cada mucina na colonização por *H. pylori* e na manutenção da infecção, bem como o papel da interação mucina/ microrganismo na patogênese de doenças gástricas. Recentemente, estudamos por imuno-histoquímica a expressão topográfica das apomucinas de MUC5AC e MUC6 em adultos normais e infectados, com UD, úlcera péptica gástrica (UG) e carcinoma gástrico, em fragmentos obtidos na incisura e na pequena e grande curvaturas do antro e corpo¹⁰. Demonstramos que a expressão das mucinas foi semelhante em todas as regiões gástricas na mucosa normal, porém, nos pacientes infectados, houve expressão de MUC5AC e MUC6 mais intensa no antro do que no corpo.

Anteriormente, foi sugerido em estudo com técnica histoquímica, que *H. pylori* atua de forma diferente no antro e corpo gástricos, porque observou-se redução de mucinas no epitélio superficial do antro, atribuída ao efeito da amô-

nia, que seria mais tóxica no antro⁷. Em nosso estudo, os pacientes infectados e com UD ou UG mostraram redução de MUC5AC e MUC6 no antro, comparados às gastrites. Nos casos de UG, houve redução na expressão de MUC5AC no corpo e, quando comparados à UD, redução também na incisura¹⁰. O menor conteúdo de mucinas parece corroborar o seu papel na ulcerogênese, contribuindo para o enfraquecimento da mucosa.

Van De Bovenkamp *et al.*³ observaram que a infecção por *H. pylori* leva à desregulação coordenada nas células secretoras do antro, em adultos. Os indivíduos infectados apresentaram, entre outras alterações, respectivamente, redução e aumento nas células produtoras de MUC5AC e MUC6. Os autores sugeriram que, associadas à proliferação epitelial, a desregulação funcional indica alterações na dinâmica do epitélio, provavelmente mediadas pela inflamação.

Mucinas gástricas e fatores de virulência de *Helicobacter pylori*

Pouco se conhece sobre a relação entre os fatores de virulência de *H. pylori* e o muco gástrico. Amostras *cagA* positivas e produtoras de citotoxina, relacionadas a intensas respostas inflamatórias e elevação do risco para úlcera péptica, foram associadas à redução na síntese de mucinas em estudo *in vitro* com análise bioquímica e cultura de células, mas o mecanismo não foi esclarecido⁹. No estudo topográfico que realizamos¹⁰, foram incluídos casos de gastrite com amostras de *H. pylori cagA* positivas e negativas. A expressão mais intensa de MUC5AC e MUC6 no antro de pacientes infectados em relação aos indivíduos normais foi independente do *status cagA*.

Mucinas gástricas e antígenos do grupo sangüíneo

Há estudos que associam as mucinas gástricas com antígenos de grupo sangüíneo e as alterações por *H. pylori*^{6,13}. Antígenos Lewis (Le) são glicoproteínas expressas por células epiteliais humanas e por amostras de *H. pylori*. O sistema histo-sangüíneo Lewis é regulado pela interação de vários genes e atua em processos de crescimento e diferenciação celular. Mucinas e Le se interrelacionam, porque os antígenos são resíduos em regiões periféricas nas moléculas de mucinas^{5,15}.

Os sítios de expressão de MUC5AC e MUC6 coincidem respectivamente com os de Lewis A e Lewis B (LeA/LeB) e Lewis X e Lewis Y (LeX/LeY), desde a vida fetal. Foi demonstrado que, durante o desenvolvimento, a co-expressão de mucinas e Le modula a interação das diversas linhagens celulares⁶. Utilizando imunoistoquímica dupla, hibridização *in situ* e RT-PCR, pesquisadores analisaram o papel das fucosiltransferases relativo à associação entre a expressão de apomucinas e Le no estômago normal, com gastrite crônica, metaplasia intestinal, displasia e

adenocarcinoma²⁹. Houve perda da expressão coordenada de apomucinas e Le em tumores gástricos e algumas disassociações nos casos de metaplasia intestinal incompleta e displasia. Nos tumores gástricos, MUC5AC e MUC6 foram detectadas na mesma linhagem celular e co-expressas com Lewis A/B e X/Y, o que se interpretou como perda da coordenação entre apomucinas e Le no processo de transformação neoplásica.

Atribui-se a MUC5AC o papel de receptor para a adesão de *H. pylori*, no muco e no epitélio superficial e foveolar. Van den Brink *et al.*² observaram por imuno-histoquímica em biópsias antrais, a co-localização de *H. pylori* e MUC5AC extracelular, correlação com células produtoras de MUC5AC, além de redução no número dessas células. Kocer *et al.*²⁸ confirmaram tais achados e notaram decréscimo na frequência e intensidade da expressão de MUC5AC em pacientes com a infecção. Foi demonstrado que MUC5AC é carreadora de LeB no tecido gástrico normal e receptora para *H. pylori*². Van De Bodenkamp *et al.*³ constataram essa relação por imuno-histoquímica e ensaios de adesão *in situ*. Linden *et al.*⁴ estudaram a adesão de amostras de *H. pylori* a mucinas, em experimento com variações de pH. Todas as amostras de *H. pylori* testadas aderiram-se a MUC5AC em pH ácido. Entretanto, em pH neutro, a adesão ocorreu devido à interação entre a adesina BabA e as estruturas de LeB da glicoproteína. Os resultados reforçaram o papel de LeB na adesão de *H. pylori* e os autores sugeriram que a suscetibilidade individual do hospedeiro ao microrganismo está relacionada com a variação das glicofomas de mucinas.

Nosso grupo estudou a expressão de Le e mucinas em crianças e observou que pacientes infectados tiveram pouca expressão de LeB e aumentaram a expressão de MUC5AC, comparados a indivíduos *H. pylori* negativos. Esses resultados sugerem que as crianças têm redução da atividade de fucosil-transferase que sintetiza ou adiciona LeB a MUC5AC, mas podem expressar preferencialmente o eixo protéico da molécula e manter a adesão da bactéria ao epitélio¹⁵.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As variações individuais e as alterações na expressão de mucinas gástricas, associadas aos papéis que lhes são atribuídos no curso da infecção por *H. pylori*, refletem uma complexa interação parasita-hospedeiro. A fisiopatologia da infecção por *H. pylori* tem aspectos obscuros quanto à adesão bacteriana. As lacunas no conhecimento são principalmente devidas aos métodos que não consideram em conjunto as estruturas protéicas e o processo de glicosilação dos receptores epiteliais e a idade dos indivíduos, além da ausência de séries comparativas de crianças e adultos. Uma vez que a infecção é tipicamente adquirida na infância, o estudo de mecanismos de expressão de mucinas gástricas pode ser importante no entendimento de

aspectos da adesão bacteriana na infecção por *H. pylori* e da patogênese das doenças associadas.

SUMMARY

Mucins are glycoproteins, which are major components of the mucous gel that protect mucosas and can act as adhesion molecules for microorganisms. *Helicobacter pylori* colonizes the gastric mucus and adheres to the gastric epithelium mediated by surface adhesins that recognize proteins or glycoproteins on the epithelial cell surface. *H. pylori* infection is associated to the pathogenesis of gastritis, peptic disease and gastric cancer. Adherence of the bacterium to gastric epithelium has been related to persistence of infection and disease outcome, depending on bacterial and host factors. Normal gastric mucosa secretes MUC5AC and MUC6 mucins respectively in the superficial/ foveolar epithelium and in the glands. Recently, MUC5AC has been considered *H. pylori* adhesin receptor, whereas MUC6 may have a role in the defense against the microorganism. Studies addressing gastric mucins may contribute to understand the *H. pylori* adhesion and the pathogenesis of the infection.

Key-words: Gastric Mucin; *Helicobacter pylori*; *Helicobacter* Infections/ complications

Apoio financeiro: CAPES (Brasil)/ ICCTI (Portugal), FAPEMIG. Ana Margarida M F Nogueira é bolsista do CNPq

REFERÊNCIAS

1. Devine PL, McKenzie IF. Mucins: structure, function, and association with malignancy. *Bioessays* 1992; 14(9): 619-25.
2. Van den Brink GR, Tytgat KM, Van der Hulst RW, Van der Loos CM, Einerhand AW, Buller HA, et al. *Helicobacter pylori* colocalises with MUC5AC in the human stomach. *Gut* 2000; 46:601-7.
3. Van De Bodenkamp JH, Mahdavi J, Korteland-Van Male AM, Buller HA, Einerhand AW, Boren T, et al. The MUC5AC glycoprotein is the primary receptor for *Helicobacter pylori* in the human stomach. *Helicobacter* 2003;8(5):521-32.
4. Linden S, Mahdavi J, Hedenbro J, Boren T, Carlstedt I. Effects of pH on *Helicobacter pylori* binding to human gastric mucins: identification of binding to non-MUC5AC mucins. *Biochem J* 2004; 384 (2):263-70.
5. Ota H, Nakayama J, Momose M, Hayama M, Akamatsu T, Katsuyama T, et al. *Helicobacter pylori* infection produces reversible glycosylation changes in gastric mucins. *Virchows Arch* 1998; 433: 419-26.
6. Lopez-Ferrer A, Barranco C, Bolos C. Apomucin expression and association with Lewis antigens during gastric development. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2001; 9(1): 42-8.
7. Kawano S, Tsujii M, Nagano K, Ogihara T, Tanimura H, Hayashi N, et al. Different effect of *Helicobacter pylori* on the

- human gastric antral and body mucosal intracellular mucin. *Scand J Gastroenterol* 1990; 25: 997-1003.
8. Byrd JC, Yunker CK, Xu QS, Sternberg LR, Bresalier RS. Inhibition of gastric mucin synthesis by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol* 2000; 118: 1072 - 9.
 9. Beil W, Enss ML, Müller S, Obst B, Sewing KF, Wagner S. Role of vacA and cagA in *Helicobacter pylori* inhibition of mucin synthesis in gastric mucous cells. *J Clin Microbiol* 2000; 38(6): 2215 -18.
 10. Marques T, David L, Reis C, Nogueira A. Topographic expression of MUC5AC and MUC6 in the gastric mucosa infected by *Helicobacter pylori* and in associated diseases. *Path Res Pract* 2005; 201(10): 665-72.
 11. Mahdavi J, Sonden B, Hurtig M, Olfat FO, Forsberg L, Roche N, et al. *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science* 2002; 297(5581): 573 - 88.
 12. Ilver D, Arnqvist A, Ögren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET, et al. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998; 279: 373 -77.
 13. Bolos C, Garrido M, Real FX. MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach. *Gastroenterology* 1995; 109: 723 - 34.
 14. Porchet N, Aubert JP. MUC genes: mucin or not mucin? That is the question. *Med Sci* 2004; 20 (5): 569 - 74.
 15. Marques T. Expressão de antígenos Lewis e mucinas na infecção por *Helicobacter pylori*: estudo comparativo entre crianças e adultos (tese). Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da UFMG; 2005.
 16. Reis CA, David L, Correa P, Carneiro F, Bolos C, Garcia E, et al. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression. *Cancer Res* 1999; 59:1003 - 7.
 17. Morgenstern S, Koren R, Moss SF, Fraser G, Okon E, Niv Y. Does *Helicobacter pylori* affect gastric mucin expression? Relationship between gastric antral mucin expression and *H. pylori* colonization. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13(1): 19 - 23.
 18. Hidaka E, Ota H, Hidaka H, Hayama M, Matsuzawa K, Akamatsu T, et al. *Helicobacter pylori* and two ultrastructurally distinct layers of gastric mucous cell mucins in the surface mucous layer. *Gut* 2001; 49: 474-8.
 19. Markesich DC, Anand BS, Lew GM, Graham DY. *Helicobacter pylori* infection does not reduce the viscosity of human gastric mucus gel. *Gut* 1995; 36(3): 327-9.
 20. Sidebotham RL, Batten JJ, Karim QN, Spencer J, Baron JH. Breakdown of gastric mucus in presence of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1991; 44(1): 52-7.
 21. Newton JL, Jordan N, Oliver L, Strugala V, Pearson J, James OF, et al. *Helicobacter pylori* in vivo causes structural changes in the adherent gastric mucus layer but barrier thickness is not compromised. *Gut* 1998; 43:470-5.
 22. Micots I, Augeron C, Laboise CL, Muzeau F, Megraud F. Mucin exocytosis: a major target for *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1993; 46(3): 241-5.
 23. Xia HH, Yang Y, Lam SK, Wong WM, Leung SY, Yuen ST, et al. Aberrant epithelial expression of trefoil family factor 2 and mucin 6 in *Helicobacter pylori* infected gastric antrum, incisura, and body and its association with antralisation. *J Clin Pathol* 2004; 57(8):861-6.
 24. Bravo JC, Correa P. Sulphomucins favour adhesion of *Helicobacter pylori* to metaplastic gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1999; 52: 137 - 40.
 25. Matsuzwa M., Ota H, Hidaka E, Hayama M, Zhang MX, Sano K, et al. *H. pylori* infection up-regulates gland mucous cell-type mucins in gastric pyloric mucosa. *Helicobacter* 2003;8 (6):594-600.
 26. Ichikawa T, Koizumi W, Takeuchi H, Okayasu I, Hayashida H, Saigenji K, et al. A new strategy for evaluation of the eradication treatment of *Helicobacter pylori*: validation of the analysis of mucin composition in human gastric juice. *Clin Chim Acta* 2001; 303(1-2):69-73.
 27. Kawakubo M., Ito Y, Okimura Y, Kobayashi M, Sakura K, Kasama S, et al. Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. *Science* 2004; 305 (5686):1003-6.
 28. Kocer B, Ulas M, Ustundag Y, Erdogan S, Karabeyoglu M, Yldrm L, et al. A confirmatory report for the close interaction of *Helicobacter pylori* with gastric epithelial MUC5AC expression. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38 (6):496-502.
 29. Lopez-Ferrer A, Bolos C, Barranco C, Garrido M, Isern J, Carlstedt I, et al. Role of fucosyltransferases in the association between apomucin and Lewis antigen expression in normal and malignant gastric epithelium. *Gut* 2000; 47:349-56.