

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E**  
**HEPATOLOGIA**

Marise dos Santos Aguiar

**NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA B<sub>12</sub>, FOLATO E HOMOCISTEÍNA EM**  
**PACIENTES DISPÉPTICOS FUNCIONAIS APÓS UM ANO DA**  
**ERRADICAÇÃO DO *HELICOBACTER PYLORI***

Porto Alegre

2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E  
HEPATOLOGIA**

**NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA B<sub>12</sub>, FOLATO E HOMOCISTEÍNA EM  
PACIENTES DISPÉPTICOS FUNCIONAIS APÓS UM ANO DA  
ERRADICAÇÃO DO *HELICOBACTER PYLORI***

Marise dos Santos Aguiar

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Becker Sander

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

dos Santos Aguiar, Marise

NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA B<sub>12</sub>, FOLATO E HOMOCISTEÍNA  
EM PACIENTES DISPÉPTICOS FUNCIONAIS APÓS UM ANO DA  
ERRADICAÇÃO DO *HELICOBACTER PYLORI* / Marise dos Santos  
Aguiar. -- 2015.  
67 f.

Orientador: Guilherme Becker Sander.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e  
Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Dispepsia Funcional. 2. *Helicobacter pylori*.  
3. Vitamina B12. 4. Folato. 5. Homocisteína. I.  
Becker Sander, Guilherme, orient. II. Título.

*Educação não transforma o mundo.*

*Educação muda pessoas.*

*Pessoas transformam o mundo.*

(Paulo Freire)

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais **Deny Alberto Pimentel Aguiar** e **Iara Ignácio dos Santos**, *in memoriam*, apesar de terem partido tão cedo, pela minha vida e formação de base.

As minhas tias gêmeas **Yacy dos Santos** e **Jacy dos Santos**, responsáveis pela minha formação e educação na adolescência, seguem sendo um exemplo em minha vida, de força, disposição e amor pela vida.

Ao meu marido **Rogério L. Marschner** pelo amor, paciência, apoio e incentivo.

Ao meu irmão **Eduardo dos Santos Aguiar**, nos momentos em que precisei de um maior conhecimento em informática, sempre disponível para sanar minhas dúvidas.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

À professora **Luise Meurer** e a todos os participantes da banca examinadora que aprovou meu ingresso no mestrado.

Ao Prof. Dr. **Guilherme Becker Sander**, meu orientador, e ao Prof. Dr. **Luiz Edmundo Mazzoleni**, coinvestigador deste projeto, por me aceitarem na equipe e me proporcionarem a chance de ampliar meus conhecimentos nesta área de pesquisa.

Ao biomédico **Tobias Cancian Milbradt**, colaborador, a disposição, cordialidade em auxiliar em todos os momentos que precisei.

À Sra. **Moema Vianna Goulart**, ex-secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, pelo seu empenho, experiência e dedicação e a formatação desta dissertação.

Ao **FIPE-HCPA**, o apoio financeiro.

À Dra. **Alice Beatriz Monbach Pinheiro Machado**, as importantes orientações quanto aos procedimentos sobre a realização das análises realizadas externamente ao HCPA.

Ao **Laboratório Bioanálises**, o profissionalismo em todos os aspectos ao realizar as análises presentes neste projeto de pesquisa.

À Profa. **Sídia M. Callegari-Jacques**, a assessoria estatística, realizando um trabalho que supera as expectativas, sempre incansável no ato de ensinar e auxiliar.

Aos **professores e colegas** do seminário de pesquisa que contribuíram para a exatidão e a evolução deste projeto de pesquisa.

À minha colega **Juliana Bruch**, doutoranda deste Programa de Pós-Graduação, no auxílio na revisão da dissertação.

À **CAPES** pelo apoio financeiro durante os meses de preparação deste trabalho.

À doutoranda em teoria da literatura **Aline C. J. da Silva** que realizou o trabalho de tradução para a língua inglesa, pela competência e pontualidade.

À doutoranda em teoria da Literatura-PUCRS **Camila C. Doval** pelo trabalho de revisão de português executado com profissionalismo e excelência.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>ATP</b>	Trisfosfato de Adenosina
<b>Cbl</b>	Cobalamina
<b>CBS</b>	Cistationina B Sintetase
<b>DF</b>	Dispepsia Funcional
<b>EDA</b>	Endoscopia Digestiva Alta
<b>FI</b>	Fator Intrínseco
<b><i>H. pylori</i></b>	<i>Helicobacterpylori</i>
<b>HEROES</b>	Helicobacter Eradication Relief of Dyspeptic Symptoms
<b>Hcy</b>	Homocisteína
<b>Hhcy</b>	Hiper-homocisteinemia
<b>HCPA</b>	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
<b>MALT</b>	Tecido Linfoide Associado à Mucosa
<b>MMA</b>	Ácido Metilmalônico
<b>MTHFR</b>	Enzima MetiltetrahydrofolatoRedutase
<b>NHANES</b>	National Health and Nutrition Examination Survey
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>AP</b>	Anemia Perniciosa
<b>ROMA III</b>	Consenso Roma III
<b>SAH</b>	S-adenosil-homocisteína
<b>SAM</b>	S-adenosil-metionina
<b>TC I</b>	Transcobalamina I
<b>TC II</b>	Transcobalamina II
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>THF</b>	Tetrahydrofolato

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO EM INGLÊS

<b>Table 1</b>	Comparison between positive <i>H. pylori</i> and eradicated <i>H. pylori</i> by age and gender .....	47
<b>Table 2</b>	Levels of Vitamin B <sub>12</sub> , folate, and homocysteine in positive <i>H. pylori</i> and eradicated <i>H. pylori</i> patients in functional dyspepsia .....	47
<b>Table 3</b>	Deficiency of Vitamin B <sub>12</sub> and folate and hyperhomocysteinemia in positive <i>H. pylori</i> and eradication <i>H. pylori</i> patients with functional dyspepsia .....	48
<b>Table 4</b>	Comparison between genders regarding the levels of Vitamin B <sub>12</sub> , folate, and homocysteine.....	49
<b>Table 5</b>	Comparison between the levels of homocysteine and positive <i>H. pylori</i> and eradicated <i>H. pylori</i> patients divided by gender .....	50



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	14
2.1 DISPEPSIA .....	14
2.1.1 Conceito e epidemiologia .....	14
2.1.2 Tipos de dispepsia.....	14
2.1.2.1 Dispepsia funcional .....	15
2.1.3 Prevalência .....	17
2.2 <i>HELICOBACTER PYLORI</i> .....	17
2.2.1 Conceito .....	17
2.2.2 Gastrite atrófica tipo A.....	19
2.2.3 Gastrite atrófica tipo B.....	19
2.2.4 Prevalência.....	19
2.3 VITAMINA B12 .....	20
2.3.1 Definição e bioquímica.....	20
2.3.2 Deficiência .....	21
2.3.3 Deficiência por má absorção.....	22
2.3.4 Deficiência e <i>H. pylori</i> .....	22
2.3.5 Deficiência por anemia perniciosa .....	23
2.3.6 Prevalência.....	23
2.4 FOLATO .....	24
2.4.1 Definição e bioquímica.....	24
2.4.2 Deficiência .....	24
2.4.3 Epidemiologia - vitamina B <sub>12</sub> e folato.....	25

2.5 HOMOCISTEÍNA.....	26
2.5.1 Metabolismo e correlação com vitaminas do complexo B.....	26
2.5.2 Hiper-homocisteinemia .....	27
<b>3 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>29</b>
<b>4 QUESTÃO DE PESQUISA .....</b>	<b>30</b>
<b>5 HIPÓTESE .....</b>	<b>31</b>
<b>6 OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
6.1 OBJETIVO GERAL .....	32
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO .....</b>	<b>33</b>
<b>8 ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS.....</b>	<b>39</b>
<b>9 CONCLUSÕES .....</b>	<b>56</b>
<b>10 PERSPECTIVAS .....</b>	<b>57</b>
<b>11 FONTE DE FINANCIAMENTO .....</b>	<b>58</b>
<b>12 ORÇAMENTO .....</b>	<b>59</b>
<b>13 ANEXOS .....</b>	<b>60</b>
ANEXO A.....	61
ANEXO B .....	62
ANEXO C .....	65

## RESUMO

**Introdução:** Dispepsia funcional é uma doença que possui critérios diagnósticos definidos por reuniões de consenso, conhecidos por critérios de Roma. Apresenta alta prevalência mundial, grande impacto social e redução na qualidade de vida do indivíduo. *Helicobacter pylori* está envolvida na patogênese da dispepsia funcional, sendo indicada sua detecção e erradicação no tratamento dos pacientes dispépticos funcionais. *H. pylori* também tem sido sugerida como um importante agente na etiologia de níveis baixos de Vitamina B<sub>12</sub> no soro. A hiperhomocisteinemia secundária à deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> e folato podem constituir um risco para as doenças cardiovasculares. **Objetivo:** investigar a relação entre os níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína e infecção pelo *H. pylori* em pacientes dispépticos funcionais. **Métodos:** Foram incluídos pacientes dispépticos funcionais, pelos critérios de Roma III do estudo HEROES (*Helicobacter Eradication Relief of Dyspeptic Symptoms*) - ClinicalTrials.gov número NCT00404534. Os pacientes dispépticos que apresentaram positividade para *H. pylori* foram randomizados para erradicação da bactéria com antibioticoterapia oral ou placebo. Após doze meses realizaram o segundo exame endoscópico com mesma metodologia. Da amostra total, 77 continuaram positivos para a infecção por *H. pylori* e 77 tiveram como resultado a erradicação da bactéria *H. pylori*, ou seja, negativaram. O material biológico foi previamente coletado e armazenado, além dos respectivos dados demográficos e clínicos. As amostras foram armazenadas a -80°C em ependorf e realizadas medidas em soro dos níveis de vitamina B<sub>12</sub> e folato e homocisteína. **Resultados:** Da amostra total, 77 pacientes eram *H. pylori* positivo (15 homens e 62 mulheres) e 77 eram *H. pylori* erradicados (21 homens e 56 mulheres). A média de idade foi de 47,8±11,5, em relação à idade e gênero não houve diferença significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Quanto aos resultados reunidos em categorias (níveis de vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína), conforme os pontos de corte usados na literatura, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos de pacientes ( $p > 0,6$ ). Não houve correlação entre idade e níveis de vitamina B<sub>12</sub> ( $p = 0,924$ ). Houve diferença entre gêneros para homocisteína ( $p = 0,035$ ), porém não houve significância para vitamina B<sub>12</sub> ( $p = 0,584$ ) e folato ( $p = 0,312$ ). Não houve diferença entre níveis de homocisteína de pacientes *H. pylori* positivos e *H. pylori* erradicados para ambos os gêneros ( $p > 0,5$ ). **Conclusões:** O presente estudo demonstrou que não houve relação significativa entre os níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína e infecção por *H. pylori* em relação aos *H. pylori* erradicados nos dispépticos funcionais. E quanto aos níveis de homocisteína comparados entre gêneros, os valores foram mais altos em homens.

**Palavras-chave:** Dispepsia; Folato; *Helicobacter pylori*; Homocisteína; Vitamina B<sub>12</sub>.

## ABSTRACT

**Introduction:** Functional dyspepsia a disease which has diagnosis criteria defined by consensus gatherings, known as the Rome criteria. It is highly prevalent worldwide, has great social impact, and reduces the quality of life of individuals. *Helicobacter pylori* is involved in the pathogenesis of functional dyspepsia, and its detection and eradication are indicated in the treatment of functional dyspepsia patients. *H. pylori* has also been suggested as an important agent in the etiology of low levels of vitamin B<sub>12</sub> in serum. A hyperhomocysteinemia secondary to vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiencies could pose a risk for cardiovascular diseases. **Objective:** To investigate the relationship among the serum levels of Vitamin B<sub>12</sub>, folate and homocysteine, and the *H. pylori* infection in functional dyspeptic patients. **Methodology:** A group of patients with functional dyspepsia was included, following the Rome III criteria from the study HEROES (*Helicobacter Eradication Relief of Dyspeptic Symptoms*) – ClinicalTrials.gov number NCT00404534. The dyspeptic patients who were positive for *H. pylori* in tissue biopsy were randomized to eradication of the bacteria with oral antibiotic therapy or placebo. After twelve months, a second endoscopy was performed with the same methodology. Of the total sample, 77 patients remained positive for *H. pylori* and 77 patients had as a result the eradication of *H. pylori* bacteria, that is, they became negative. The biological material was previously collected and stored, besides its demographic and clinical data. The samples were stored at -80°C in Eppendorf, they were measured in the serum of vitamin B<sub>12</sub> and folate levels. **Results:** Of the total sample, 77 patients were positive for *H. pylori* (15 men, 62 women) and 77 patients had the eradication of *H. pylori* (21 men, 56 women). The average age of the sample was about 47,8±11,5, regarding age and gender, it was not observed significant difference between the groups ( $p > 0,05$ ). Concerning the results gathered into categories (the levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine), as the cut off points used in the literature, it was not observed statistically significant difference between the two groups of patients ( $p > 0,6$ ). There was no correlation between age and vitamin B<sub>12</sub> levels ( $p = 0,924$ ). There was difference between genders for homocysteine ( $p = 0,035$ ), but there was no significant difference for vitamin B<sub>12</sub> ( $p = 0,584$ ) and folate ( $p = 0,312$ ). There was no difference between homocysteine levels of positive patients for *H. pylori* and *H. pylori* eradication in both genders ( $p > 0,5$ ). **Conclusions:** The study showed no significant relationship between the serum levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine and the *H. pylori* infection in relation to *H. pylori* eradication in functional dyspeptic patients. Regarding homocysteine levels compared between genders, the values were higher in men.

**Keywords:** Dyspepsia; Folate, *Helicobacter pylori*; Homocysteine; Vitamin B<sub>12</sub>.

## 1 INTRODUÇÃO

Dispepsia funcional (DF) pode ser definida como um grande espectro de sintomas gastrointestinais superiores crônicos e recorrentes, com ausência de qualquer alteração orgânica ou metabólica<sup>1</sup>.

A infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) tem um papel na patogênese da Dispepsia Funcional e a detecção e erradicação da bactéria são realizadas para o tratamento da DF por intervenções médicas bem estabelecidas<sup>2</sup>. Dos pacientes com DF, 40% a 60% sofrem de uma infecção por *H. pylori* detectável, que pode induzir inflamação crônica, gastrite e está associada ao desenvolvimento de úlcera péptica, carcinoma gástrico e deficiência de micronutrientes<sup>3</sup>. Aproximadamente 50% da população mundial é infectada por *H. pylori*, tendo esta sido classificada como agente cancerígeno grau I, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), em 1994<sup>4</sup>.

As vitaminas e os minerais são essenciais para a vida. Desempenham funções como cofatores de enzimas essenciais e participam das estruturas moleculares das células. A deficiência de micronutrientes altera a homeostase do sistema imune, influenciando, assim, a morbidade e a mortalidade relacionadas à infecção. As deficiências subclínicas são conhecidas por danificarem as funções biológicas do hospedeiro. Há uma crescente evidência da relação entre baixos níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub> e infecção por *H. pylori*<sup>5</sup>.

Vitamina B<sub>12</sub> ou cobalamina (Cbl) ou cianocobalamina é uma vitamina solúvel em água, uma molécula complexa que não pode ser sintetizada pelo metabolismo humano, sendo necessário ser fornecida através da dieta a partir de alimentos de origem animal. Possui funções importantes na replicação do Ácido Desoxirribonucleico (DNA), na síntese dos glóbulos vermelhos e na manutenção da bainha de mielina que envolve as células nervosas<sup>6</sup>.

A homocisteína é um aminoácido formado a partir da desmetilação da metionina proveniente da dieta ou de seu catabolismo. A presença de Vitamina B<sub>12</sub>, Vitamina B<sub>6</sub> e ácido fólico é essencial para o metabolismo da homocisteína, e a deficiência de um ou mais destes nutrientes está associada a vários graus de hiperhomocisteinemia<sup>7</sup>. Estudos têm demonstrado que a deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> está envolvida no desenvolvimento de doenças cardiovasculares relacionadas ao aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína<sup>8, 9, 10</sup>. As análises de Vitamina B<sub>12</sub> e

folato são realizadas simultaneamente, pois a deficiência das duas vitaminas aumenta os níveis de homocisteína no soro<sup>11</sup>.

O objetivo deste estudo foi avaliar níveis de vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína e infecção por *H. pylori* nos pacientes dispépticos funcionais em relação aos pacientes *H. pylori* erradicados. Apesar de haver um crescente número de trabalhos demonstrando uma correlação entre infecção por *H. pylori* e níveis de Vitamina B<sub>12</sub>, folato e hiper-homocisteinemia, não há, até o presente momento, um consenso definido e estudos que comprovem esta ocorrência em dispépticos funcionais em relação aos pacientes *H. pylori* erradicados.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 DISPEPSIA

#### 2.1.1 Conceito e epidemiologia

Talley e colaboradores definem dispepsia quando há presença de sintomas recorrentes ou persistentes de desconforto e/ou dor no abdômen superior, não restritos ao período pós-prandial. A palavra dispepsia deriva do idioma grego (no qual “*dys*” significa difícil e “*peptein*”, digestão)<sup>12</sup>.

O desconforto pode representar sensações desagradáveis não interpretadas como dor, caracterizadas como plenitude epigástrica, “*bloating*” (termo em inglês sem tradução exata para a língua portuguesa, assemelhando-se à sensação de distensão abdominal), saciedade pós-prandial precoce, náuseas, vômitos, entre outros sintomas. Tais condições clínicas podem ser contínuas ou intermitentes e estarem associadas ou não às refeições. Os sintomas dispépticos apresentam flutuações ao longo do tempo<sup>13</sup>.

#### 2.1.2 Tipos de dispepsia

Os pacientes dispépticos podem ser subdivididos em 3 grupos: o 1º é caracterizado pela presença de uma doença identificável, em que exista uma

relação de causalidade provada com sintomas de dispepsia, é denominada então chamada dispepsia orgânica, que desaparece com a cura da doença, como por exemplo: úlcera péptica, câncer, neoplasias e doenças bíleo-pancreáticas. No 2º grupo constam anormalidades fisiopatológicas ou microbiológicas, mas cuja relação causal com dispepsia não está bem clara e definida: gastrites associadas à infecção por *H. pylori*, duodenite histológica, hipersensibilidade visceral, e dismotilidade gastroduodenal. No terceiro grupo não há nenhuma anormalidade detectável. Os pacientes do segundo e terceiro grupo, para os quais não são encontradas explicações estruturais ou bioquímicas que justifiquem os sintomas, são denominados pacientes com Dispepsia Funcional<sup>1</sup>.

#### 2.1.2.1 Dispepsia funcional

Dispepsia funcional (DF) pode ser definida como um grande espectro de sintomas gastrointestinais superiores crônicos e recorrentes, com ausência de qualquer alteração orgânica ou metabólica. Uma doença altamente heterogênea, com numerosos mecanismos fisiopatológicos como disfunção motora gastroduodenal, hipersensibilidade visceral, disfunção do sistema nervoso central<sup>1, 13</sup>.

Infecção pelo *H. pylori* e fatores psicossociais têm sido sugeridos no desenvolvimento da DF. Estima-se que 40% a 60% destes pacientes sofrem de uma infecção por *H. pylori* detectável, que pode induzir inflamação crônica e gastrite, associada ao desenvolvimento de úlcera péptica, carcinoma gástrico e deficiência de micronutrientes<sup>3</sup>. Uma condição muito comum, com alta prevalência mundial, que pode ser incapacitante e representar um encargo econômico social importante<sup>14, 15</sup>.

Fatores de riscos que parecem ser relevantes para DF incluem: hábitos alimentares, fatores ambientais, estilo de vida tais como baixo status socioeconômico, tabagismo, aumento da ingestão de cafeína e ingestão de medicamentos anti-inflamatórios não esteroides<sup>16</sup>.

Pacientes com DF têm redução na qualidade de vida, pois seus sintomas, principalmente a dor abdominal e a indigestão, causam sofrimento emocional, problemas na ingestão de alimentos e bebidas e uma vitalidade deficiente<sup>17</sup>.

Os critérios diagnósticos para definição de DF foram definidos por reuniões de consenso e são conhecidos por critérios de Roma<sup>1</sup>, os quais devem incluir 1 ou mais

dos seguintes sintomas: plenitude pós-prandial desconfortável, saciedade precoce, dor e queimação epigástrica. Além disso, é necessário preencher o requisito referente aos seguintes critérios de exclusão: Nenhuma evidência de doenças estruturais que possam explicar os sintomas e necessária investigação através da endoscopia digestiva alta (EDA). Os critérios deverão estar presentes nos últimos três meses, com início dos sintomas pelo menos seis meses antes do diagnóstico.

O Consenso Roma III sugere categorizar a DF em duas novas entidades<sup>1</sup>:

1. Síndrome do desconforto pós-prandial (SIDEPP): consiste na presença de sintomas dispépticos induzidos pelas refeições. Os critérios diagnósticos devem incluir um dos ou dois dos seguintes sintomas: plenitude pós-prandial desconfortável, ocorrendo após refeições de volume normal, saciedade precoce que impede a ingestão de uma refeição regular. Os sintomas devem estar presentes nos últimos 3 meses e terem iniciado pelo menos 6 meses antes do diagnóstico. Os critérios de suporte são: sensação de distensão (ou “*bloating*”, do termo em inglês), náuseas ou eructações excessivas após as refeições. Além disso, essa síndrome poderá coexistir com a síndrome da dor epigástrica.
2. Síndrome da dor epigástrica (SIDE): os critérios diagnósticos devem incluir os seguintes sintomas: dor ou queimação localizada no epigástrico de pelo menos moderada intensidade e pelo menos 1 vez por semana; dor deve ser intermitente e não deve ser uma dor generalizada nem sentida em outras regiões do abdômen ou do tórax; não deve ser aliviada pelas evacuações ou por eliminação de flatos; não preencha critérios para doenças da vesícula biliar ou do esfíncter de Oddi.

Os sintomas devem ter ocorrido nos últimos 3 meses e iniciado pelo menos 6 meses antes do diagnóstico e os critérios diagnósticos de suporte são: dor pode ter característica de queimação mas sem irradiação retroesternal; a dor é geralmente induzida ou aliviada por ingestão de alimentos podendo ocorrer em jejum; a síndrome do desconforto pós-prandial pode coexistir.



### 2.1.3 Prevalência

A dispepsia tem alta prevalência mundial, acometendo entre 15% e 40% da população em diferentes países<sup>18</sup>. Segundo Mahadeva et al., a prevalência da dispepsia não investigada varia entre 7% e 45%, dependendo da definição utilizada e a localização geográfica, enquanto que a prevalência da DF tem se encontrado numa variabilidade entre 11% a 29,2%<sup>16</sup>. Em mulheres é mais predominante, sendo estável ou ocorrendo um declínio, com a idade. Os sintomas dispépticos apresentam flutuações e sugerem que sejam a causa de mais de 5% das consultas<sup>19</sup>. No Brasil foi observada uma prevalência de dispepsia não investigada em 48% da população brasileira<sup>20</sup>. No Rio Grande do Sul, um estudo populacional indicou uma prevalência de 44% de dispepsia presente na população da cidade de Pelotas<sup>21</sup>. No caso da DF, há evidências de que ocasiona queda na produtividade laboral, com influência negativa no trabalho, em intensidade semelhante à dispepsia orgânica<sup>22</sup>.

## 2.2 HELICOBACTER PYLORI

### 2.2.1 Conceito

Em 1983, dois pesquisadores australianos descobriram a bactéria *H. pylori* em biópsias gástricas de pacientes com gastrite crônica ou úlcera péptica. Foi inicialmente denominada *Campylobacterpyloridis*, mas posteriormente foi demonstrado que ela não é do gênero *Campylobacter* seu nome foi modificado para a denominação utilizada atualmente<sup>23, 24</sup>.

*H. pylori* é uma bactéria gram-negativa, flagelada, em espiral, com 4-6 flagelos, que provoca gastrite crônica e aguda e, posteriormente, atrofia gástrica. Possui capacidade de sobreviver ao meio ácido do estômago. É considerada o patógeno mais comum presente na colonização da mucosa gástrica do ser humano. As bactérias residem na interface das células epiteliais e mucosa gástricas, causando uma série de alterações antes da fase final de atrofia gástrica<sup>25, 26</sup>. Foi classificada como agente cancerígeno grau I, pela OMS, em 1994. Pode estar associada com o linfoma associado à mucosa (MALT)<sup>4, 27</sup>.

A infecção por *H. pylori*, uma vez que a colonização ocorreu, persiste ao longo da vida, se não houver detecção e tratamento adequado. A elevação da gastrina e a redução da somatostatina causam secreção elevada de ácido a partir de células parietais gástricas, afetando a digestão e a absorção de alguns nutrientes e micronutrientes<sup>28</sup>. Ao longo do tempo (geralmente muitos anos), alguns, mas não todos os indivíduos infectados, desenvolvem úlcera péptica, gástrica, câncer e gastrite atrófica, podendo ocorrer baixa secreção de ácido gástrico (hipocloridria) e conseqüentemente a inadequada produção do fator intrínseco (FI)<sup>26</sup>.

Há uma crescente evidência da relação entre baixos níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub> e infecção por *H. pylori*. Estudos sugerem que a deficiência de Vitamina B<sub>12</sub>, especialmente nos países em desenvolvimento, é frequentemente causada por gastrite crônica devida à *H.pylori*<sup>5, 29</sup>. Entretanto, tem sido demonstrado que a deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> induzida por *H. pylori* ocorre também na ausência de mucosa gástrica atrófica<sup>30</sup>. A prova de causalidade tem sido um pouco inconsistente, pois geralmente não é sabido há quanto tempo a infecção está presente ou a densidade de bactérias, nem que os diferentes genótipos da bactéria podem ter efeitos diferentes<sup>26</sup>.

Em um estudo de coorte transversal, foram avaliados 60 indivíduos para análise de infecção por *H. pylori* e também dos níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub>. Foram encontrados valores inferiores a 200 pg/ml em 67,4% dos 43 pacientes infectados por *H. pylori*<sup>31</sup>. Em outro estudo de coorte prospectivo, foram analisados 138 pacientes com deficiência de Vitamina B<sub>12</sub>, e a erradicação da infecção por *H. pylori* melhorou os níveis séricos desta vitamina em 40% dos 77 pacientes infectados tratados<sup>32</sup>.

Andrès et al.<sup>33</sup> avaliaram 92 pacientes com média de idade de 76 anos e verificaram que 30% dos idosos que tinham infecção por *H. pylori* apresentavam má absorção de Cobalamina (Cbl) ingerida. Marino et al.<sup>34</sup> avaliaram as concentrações de Cbl e homocisteína antes da erradicação e 6 e 12 meses após a erradicação do *H. pylori*, em 62 pacientes idosos, e concluíram que a erradicação de *H. pylori* em pacientes idosos com níveis baixos de Cbl melhorou os níveis de Vitamina B<sub>12</sub> e diminuiu os níveis de homocisteína no sangue.

Rassol et al.<sup>35</sup> em seu estudo do qual participaram 130 pacientes, sendo 80 *H. pylori* positivo e 50 *H. pylori* negativo não encontraram impacto na presença de

*H. pylori* em relação aos níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína em relação aos pacientes *H. pylori* negativo.

Na gastrite atrófica, a atrofia do estômago é acompanhada de secreção baixa ou ausente de ácido gástrico e às vezes por crescimento excessivo de bactérias na porção do intestino superior, ocorrendo 2 tipos de gastrite, A e B<sup>26</sup>.

### 2.2.2 Gastrite atrófica tipo A

A gastrite atrófica tipo A é uma alteração autoimune, afeta principalmente o corpo do estômago. Anticorpos bloqueadores presentes no suco gástrico podem se unir ao sítio de ligação do FI. Ocorre a destruição progressiva das células parietais da mucosa gástrica, o que reduz a produção do FI e, por isso, sua secreção se torna baixa ou muitas vezes ausente. No estágio avançado, tem como consequência um quadro denominado anemia perniciosa (AP). Consequentemente, a absorção da Vitamina B<sub>12</sub> que se origina do alimento e que é ingerida através de suplementação fica prejudicada<sup>36</sup>.

### 2.2.3 Gastrite atrófica tipo B

A gastrite atrófica do tipo B é originada principalmente por infecção por *H. pylori*, atinge primariamente o *antrum* e, em estágios avançados, todo o estômago. Produz ainda redução da produção de ácido e pepsina, afetando diretamente a absorção da Vitamina B<sub>12</sub> dos alimentos, mesmo na presença de quantidades adequadas de FI<sup>36, 37</sup>. É a causa mais frequente de deficiência subclínica em idosos; 10% a 15% dos indivíduos com mais de 60 anos apresentam algum grau de deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> advinda da gastrite atrófica<sup>24</sup>. A redução da acidez gástrica favorece o crescimento da flora bacteriana intestinal, sendo mais um fator para a redução da absorção da Vitamina B<sub>12</sub><sup>38</sup>.

### 2.2.4 Prevalência

A prevalência da infecção por *H. pylori* varia de acordo com idade, raça, etnia, localização geográfica e classe socioeconômica, possuindo uma variabilidade entre

30% a 90%<sup>27</sup>. Nos países desenvolvidos, a prevalência de *H. pylori* é de 25% a 40%; já nos países em desenvolvimento, é de quase 100%. Em países da América do Sul, a prevalência tem sido de 70% a 90% da população. No Brasil, estudos epidemiológicos demonstram que 60% a 70% dos indivíduos estejam infectados pelo *H. pylori*<sup>39,40</sup>.

A prevalência de gastrite atrófica em indivíduos com idade igual ou superior a 50 anos foi estimada entre 10% a 30%, e muitos idosos sofrem de infecção por *H. pylori*. Estas condições resultam em uma deficiência na absorção de vitamina B<sub>12</sub> devido a uma diminuição da capacidade para libertar a vitamina da haptocorrina<sup>41</sup>.

## 2.3 VITAMINA B<sub>12</sub>

### 2.3.1 Definição e bioquímica

Vitamina B<sub>12</sub> ou Cobalamina (Cbl) ou cianocobalamina é uma vitamina solúvel em água, uma molécula complexa que não pode ser sintetizada pelo metabolismo humano, e sim exclusivamente por microorganismos<sup>5</sup>. Sendo encontrada em praticamente todos os tecidos animais e estocada primariamente no fígado na forma de adenosilcobalamina. Na dieta humana, restringe-se a alimentos de origem animal, principalmente leite, carnes e ovos<sup>42</sup>.

A vitamina B<sub>12</sub> é a maior (peso molecular) e mais complexa de todas as vitaminas. Denominada de Cbl, pois contém um metal pesado, cobalto, que dá à vitamina hidrossolúvel uma cor vermelha. Quimicamente, o termo Vitamina B<sub>12</sub> refere-se à hidroxicobalamina ou à cianocobalamina, ainda que genericamente seja aplicado para todas as formas de Cbl<sup>42</sup>. No organismo humano funciona como um cofator essencial para duas enzimas: metionina sintase e L-metilmaloni-coAmutase, ambas direta ou indiretamente envolvidas no metabolismo da homocisteína<sup>43</sup>.

A Vitamina B<sub>12</sub> liberada dos alimentos protéicos se liga à haptocorrina (proteína salivar ligante de Vitamina B<sub>12</sub>), também denominada transcobalamina I (TC I ou Holo-Hc). Após a proteólise do complexo haptocorrina-Vitamina B<sub>12</sub> pelas proteases pancreáticas no duodeno, a molécula da Vitamina B<sub>12</sub> se liga ao FI gástrico (IF-glicoproteína produzida pelas células parietais do estômago) no íleo. O complexo IF-Vitamina B<sub>12</sub> entra nas células da mucosa do íleo terminal por meio de

um receptor mediado por endocitose, onde a Vitamina B<sub>12</sub> é absorvida e ligada a um transportador plasmático e lançada na circulação<sup>44, 45</sup>. O FI não é absorvido pelo intestino, sendo expelido sem transformação.

A Vitamina B<sub>12</sub>, absorvida no íleo terminal, é então ligada à transcobalamina II (TC II), chega à circulação portal e é distribuída para as células que expressam receptores específicos, completando o ciclo de absorção na forma complexo Tc-Vitamina B<sub>12</sub><sup>46</sup>. Assim tem funções importantes na replicação do ADN, na síntese do sangue vermelho e na manutenção da bainha de mielina que envolve as células nervosas<sup>5</sup>.

A biodisponibilidade da Vitamina B<sub>12</sub> dietética é significativamente dependente do sistema de absorção gastrointestinal. Acredita-se que 50% é absorvida por adultos saudáveis<sup>44</sup>. Apesar de os idosos terem uma maior reserva corporal em decorrência do acúmulo da vitamina ao longo dos anos, eles apresentam uma dificuldade maior de produzir o FI, dificultando assim a absorção da Cbl<sup>47</sup>.

### 2.3.2 Deficiência

A deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> manifesta-se primariamente como anemia e mudanças neurológicas<sup>6</sup>. A deficiência inibe a síntese do DNA, o que afeta o crescimento e a reparação celular<sup>48</sup>. Os sintomas de deficiência incluem: fadiga, neuropatia periférica, irregularidades na língua e boca, anemia macrocítica (crescimento anormal das células vermelhas), depressão, confusão e perda de memória, fraca coagulação sanguínea e aparecimento de hematomas sem motivo aparente, dermatite e sensibilidade de pele, perda de apetite, náusea e vômitos<sup>48</sup>.

O conceito de deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> foi expandido além da anemia megaloblástica, considerando-se atualmente os danos neurológicos<sup>39</sup>. Deve-se a este fato ao aumento de sensibilidade dos testes usados até então e pela introdução de novos marcadores da deficiência de Vitamina B<sub>12</sub>, como dosagem de transportadores (holo-tc) e de metabólitos, como o ácido metilmalônico (MMA) e a homocisteína (Hcy), que se elevam com a diminuição da disponibilidade de Vitamina B<sub>12</sub><sup>49, 50</sup>. Deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> é considerada níveis no soro < 200 pg/ml (< 148 pmol/L) e margens de deficiência ou deficiência subclínica níveis > 200 - 300 pg/ml (148 - 221 pmol/L)<sup>26, 51</sup>. Dados clínicos revelam que em torno de 3% a 5% dos

pacientes com diagnóstico de deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> no soro têm concentrações de Vitamina B<sub>12</sub> > que 148 pmol/L (200 pg/ml) e uma proporção ainda maior de indivíduos com níveis anormais de MMA e Hcy têm no soro níveis de Vitamina B<sub>12</sub> > 148 pmol/L (200 pg/ml)<sup>52</sup>.

Na reunião do National Health and Nutrition Examination Survey - NHANES<sup>53</sup>, realizada em 2010, especialistas concordaram que, devido a problemas de sensibilidade e especificidade dos biomarcadores da Vitamina B<sub>12</sub>, a conduta mais indicada é realizar a medida de um biomarcador de circulação (Vitamina B<sub>12</sub> ou holoTC) e um biomarcador funcional (MMA ou Hcy) simultaneamente, e não medir somente um biomarcador<sup>53</sup>.

### 2.3.3 Deficiência por má absorção

Má absorção tende a causar depleção de vitamina B<sub>12</sub> mais rapidamente do que a baixa ingestão de vitamina; e má absorção combinada com baixo consumo faz com que ocorra mais rápido a diminuição das reservas hepáticas. Os sintomas de deficiência aparecem entre 2 a 5 anos quando a má absorção se deve à falta de FI. Pois neste caso a absorção da recirculação entero-hepática da vitamina também é prejudicada. No entanto, quando a má absorção é causada por liberação deficiente da vitamina dos alimentos, como na atrofia gástrica, a eficiência da recirculação entero-hepática pode ser normal, mas a quantidade reabsorvida é baixa, uma vez que as reservas hepáticas se esgotam<sup>26</sup>.

### 2.3.4 Deficiência e *H. pylori*

A má absorção da Cbl alimentar é causada principalmente por atrofia gástrica. E a atrofia gástrica pode ou não estar relacionada com infecção por *H. pylori*<sup>30</sup>. Os mecanismos de má absorção da Vitamina B<sub>12</sub> causada por infecção por *H. pylori* são explicados através de alguns eventos<sup>28</sup>: a) secreção ácida diminuída pela gastrite induzida por *H. pylori*, prejudicando a liberação da Vitamina B<sub>12</sub> dos alimentos protéicos para posterior união com a haptocorrina (proteína salivar ligante de Vitamina B<sub>12</sub>); b) disfunção na secreção do FI; c) diminuição da absorção de ácido

ascórbico para a mucosa, pois a Vitamina C colabora para manter o pH gástrico em níveis mais elevados.

### 2.3.5 Deficiência por anemia perniciosa

Foi descrita pela primeira vez no início de 1800 e diagnosticada com base neurológica, problemas gástricos e anemia. No final do século XIX, observou-se que a condição era associada à atrofia da mucosa gástrica. Em 1948, a Vitamina B<sub>12</sub> foi identificada como o "princípio anti-anemia perniciosa"<sup>54</sup>. PA é a fase final de uma desordem autoimune em que anticorpos contra H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase destroem as células parietais do estômago, as quais secretam ácido clorídrico e são responsáveis pela síntese de uma glicoproteína chamada FI<sup>55</sup>. Ocorre então uma falha na liberação da Vitamina B<sub>12</sub> dos alimentos protéicos através da haptocorrina (proteína salivar ligante da Vitamina B<sub>12</sub>) para posterior transferência desta proteína para o estômago. Pode ser detectada através da medição de anticorpos antifator intrínseco e anticorpos anticélula parietais<sup>28</sup>.

Outros fatores relacionados à redução do FI de absorção da Vitamina B<sub>12</sub> podem contribuir para o aparecimento da PA: uso prolongado de antiácidos, incluindo inibidores H<sub>2</sub> da bomba de próton, uso prolongado de biguanidas (metformina), alcoolismo crônico, cirurgias gástricas e perda parcial da função pancreática<sup>56</sup>.

### 2.3.6 Prevalência

A deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> representa um sério problema de saúde pública e sua prevalência é muito variável, dependendo da idade e das populações analisadas. Estudos epidemiológicos evidenciam que a população, em geral tem uma prevalência de deficiência de cerca de 20% em países industrializados, com um intervalo entre 5% e 60%, dependendo do ponto de corte utilizado para deficiência<sup>57, 58, 59</sup>. Baixas concentrações séricas de Vitamina B<sub>12</sub> têm sido relatadas em aproximadamente 10% da população idosa em países industrializados, e o aumento da prevalência aumenta com a idade para, aproximadamente, 5% aos 65 anos e 20% aos 85 anos<sup>60</sup>.

## 2.4 FOLATO

### 2.4.1 Definição e bioquímica

O termo genérico folato, vindo do nome *folium*, está incluído no grupo das vitaminas hidrossolúveis do complexo B e trabalha em sinergia com a Vitamina B<sub>12</sub>. O ácido fólico é a forma sintética usada como um fortificante de alimentos e suplemento vitamínico. No organismo, é convertido em uma forma biologicamente ativa chamada tetraidrofolato (THF), sendo necessária a presença de niacina e de Vitamina C para essa conversão<sup>61</sup>.

Os folatos alimentares e os sintéticos se diferenciam em vários aspectos. Os folatos alimentares são, em sua maioria, poliglutamatos, enquanto que o ácido fólico sintético é um monoglutamato, e esta diferença irá influenciar o modo de absorção e biodisponibilidade de ambos<sup>36</sup>, pois a necessidade de redução a monoglutamatos dos folatos alimentares anterior à absorção faz com que a sua biodisponibilidade seja menor que o ácido fólico (sintético). Em comparação ao ácido fólico, a biodisponibilidade relativa dos folatos alimentares é de cerca de 50%<sup>62</sup>.

A síntese das formas ativas de ácido fólico requer diversas enzimas, ótimo funcionamento hepático e intestinal e níveis normais de várias vitaminas e minerais, as quais agem em sinergismo<sup>63</sup>. O principal mecanismo de ação do ácido fólico, e sua forma coenzimática, a 5-metil THF, é agir como doador de grupamentos metil (CH<sub>3</sub>) para ilhas CpG presentes no DNA. O folato é convertido em THF, que, pela ação da enzima metiltetrahidrofolatoredutase (MTHFR) e pela reação com a Vitamina B<sub>6</sub>, é convertido em 5-metiltetrahidrofolato<sup>64</sup>. O folato ainda participa de outros mecanismos importantes como fechamento do tubo neural do feto, maturação das células vermelhas e síntese de proteínas<sup>65</sup>.

### 2.4.2 Deficiência

A deficiência de folato possui características semelhantes às da deficiência de Vitamina B<sub>12</sub>. Geralmente é devida a uma insuficiência dietética, mas também pode surgir a partir de síndromes de má absorção. Os sintomas incluem: anemia macrocítica, fadiga, dores de cabeça, perda de cabelo, irritabilidade, neuropatia



periférica, diarreia, perda de peso, insônia, depressão, demência, distúrbios cognitivos, desordens psiquiátricas, defeitos congênitos e hiper-homocisteinemia<sup>63</sup>.

O ácido fólico é essencial à metilação da Hcy para formar metionina e para a biossíntese dos deoxinucleotídeos necessários para replicação do DNA. Os padrões e as causas da deficiência de folato diferem consideravelmente de deficiência de Vitamina B<sub>12</sub><sup>29</sup>. A absorção do folato não é mediada por proteína ligante como na absorção da Cbl. Portanto, a má absorção do folato tem um papel muito menos frequente. A deficiência de folato teve uma diminuição significativa nos países que instituíram programas de fortificação de alimentos com ácido fólico<sup>66</sup>.

#### 2.4.3 Epidemiologia - vitamina B<sub>12</sub> e folato

Existem poucos estudos sobre a deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> em países em desenvolvimento. Em estudo realizado na Jordânia, com 216 adultos saudáveis voluntários, observou-se uma taxa de deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> em 48,1%, e 7% de deficiência de folato<sup>67</sup>. Um estudo realizado com adolescentes do sexo feminino (12 a 16 anos de idade) em Maiduguri, Nigéria, mostrou que 4% apresentaram concentrações de folato sérico abaixo dos níveis adequados, valores iguais a < 6,8 pmol/L, e 9% tinham níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub> ≤ 134 pmol/L, caracterizando deficiência<sup>68</sup>. Em países em desenvolvimento como Índia, México e Guatemala, foi verificada alta deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> em gestantes, lactantes e crianças em período de amamentação<sup>69</sup>.

Estudo brasileiro verificou a frequência de deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> em duas populações (idosos e adultos) com um total de 500 indivíduos, sendo encontrada deficiência de vitamina B<sub>12</sub> frequente entre os adultos<sup>32</sup>. A deficiência de folato não foi detectada em nenhum dos participantes, no entanto, a farinha brasileira é suplementada com 250 mg de ácido fólico/100 g de farinha<sup>70</sup>.

Ramos e colaboradores mensuraram os valores de folato eritrocitário em 1.789 americanos de origem latina com idade igual ou superior a 60 anos, após a política da fortificação das farinhas, e encontraram valores no eritrócito deficiente (< 160 ng/ml) em menos de 1% dos indivíduos<sup>71</sup>.

Outro estudo analisando os níveis séricos da Vitamina B<sub>12</sub> e folato foi realizado na Suécia em uma amostra de 961 indivíduos com idade entre 35 a 80

anos e foi observado déficit de folato ( $< 7$  nmol/L) em 2,1% da amostra<sup>72</sup>. O percentual de déficit de folato permanecia estável em todas as faixas etárias e dos níveis de Vitamina B<sub>12</sub> apresentou uma tendência crescente no grupo de idosos.

Um estudo transversal realizado no Reino Unido avaliou a prevalência de déficits de vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico em uma amostra de 3.511 indivíduos com idade  $\geq$  a 65 anos, encontrando valores indicativos de déficit de folato em cerca de 5% com idade até 74 anos e de cerca de 10% nos idosos com mais de 75 anos<sup>73</sup>.

Uma recente revisão sistemática e meta-análise avaliou a associação de *H. pylori* e os níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub> em 17 estudos envolvendo 2.454 pacientes. Este estudo mostrou que os níveis séricos de Vitamina B<sub>12</sub> foram significativamente inferiores nos pacientes infectados do que nos não infectados, e a erradicação do *H. pylori* revelou um aumento significativo nos níveis de Cbl<sup>74</sup>.

## 2.5 HOMOCISTEÍNA

### 2.5.1 Metabolismo e correlação com vitaminas do complexo B

A Hcy é um aminoácido sulfidrílico formado a partir da desmetilação da metionina proveniente da dieta ou de seu catabolismo. É metabolizada através de duas vias: remetilação (dependente de Vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico) e transulfuração (dependente de Vitamina B<sub>6</sub>)<sup>8</sup>. As vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> atuam como coenzimas e, assim, não são utilizadas em excesso durante a reação na qual estão envolvidas. O ácido fólico, entretanto, funciona como um doador do grupo metil na reação de remetilação e é utilizado gradualmente até que seja convertido em 5-metiltetra-hidrofolato (MTHF). Durante a reação de remetilação, o grupo metil do MTHF é transferido para a Hcy pela Vitamina B<sub>12</sub> para, posteriormente, formar a metionina. Por essa razão, o ácido fólico age como fator limitante para tal reação, e a ausência desse doador do grupo metil não pode ser compensada pela Vitamina B<sub>12</sub>. Dessa forma, a Vitamina B<sub>12</sub> tem sido considerada menor determinante das concentrações plasmáticas de Hcy do que o ácido fólico<sup>75</sup>.

Após a remetilação da Hcy, a metionina é formada e condensada com o trifosfato de adenosina (ATP), resultando na S-adenosil-metionina (SAM), logo após, através de uma reação de desmetilação, forma-se a S-adenosil-homocisteína (SAH)

como hidrólise, para liberar adenosina e Hcy, completando a rota metabólica<sup>76</sup>. A metilação da Hcy serve para repor os estoques do SAM quando a metionina dietética estiver em baixos níveis. Conseqüentemente, além do aumento de Hcy, a deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> causará a diminuição do SAM, resultando na redução de importantes reações de transmetilação do organismo e ocasionando prejuízos no sistema nervoso<sup>77</sup>. Na transulfuração, a Hcy é convertida em cistationina, reação catalisada pela enzima cistationina B sintetase (CBS), que necessita de Vitamina B<sub>6</sub> como cofator e, após, gerando cisteína e alfa cetobutirato. Uma redução da atividade da CBS por deficiência do cofator, que é a Vitamina B<sub>6</sub>, ou por alguma mutação, pode levar a um aumento da homocisteína<sup>58, 8</sup>.

A homocisteína plasmática livre é encontrada na forma oxidada, formando dissulfetos que contêm enxofre e que incluem Hcy (dímero da Hcy) e dissulfetos mistos, como homocisteína-cisteína. Entre 2% e 5% da Hcy plasmática livre está presente em sua forma reduzida, e 70% a 80% circulam ligados a proteínas plasmáticas, principalmente a albumina. A Hcy é liberada para o plasma a partir dos tecidos, em quantidades reduzidas. Quando há um excesso de metionina, o excedente de Hcy é direcionado para a via de transulfuração; estes mecanismos controlam a concentração plasmática. Porém, quando o balanço entre a síntese e o turnover da Hcy é interrompido, a Hcy e seus derivados se acumulam nas células e no sangue<sup>78</sup>.

### 2.5.2 Hiper-homocisteinemia

A elevação plasmática da Hcy é influenciada tanto por fatores nutricionais, como o status do ácido fólico e as vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>, quanto por fatores hereditários, além de estados patológicos, como a redução da função renal e o hipotireoidismo, pelos efeitos de medicamentos (metotrexato e anticonvulsivantes), associada ainda a defeitos congênitos do tubo neural, do coração, abortos e outras complicações<sup>79, 80</sup>. A hiper-homocisteinemia (Hhcy) promove a aterosclerose através do aumento do estresse oxidativo, prejudicando a função endotelial e induzindo à trombose<sup>81</sup>. Segundo estudos clínicos e epidemiológicos, está associada com doença vascular prematura em adultos, considerada um fator de risco para demência, transtornos depressivos e doenças cardiovasculares<sup>81, 82</sup>. Vários estudos têm demonstrado que

a deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico são fatores de risco para doenças vasculares moderadas, relacionados com o aumento dos níveis plasmáticos de Hcy<sup>9, 10, 43</sup>.

### 3 JUSTIFICATIVA

A prevalência mundial da Dispepsia Funcional e também de infecção por *H. pylori*, assim como as causas da deficiência de Vitamina B<sub>12</sub>, folato e hiper-homocisteinemia se encontra estabelecida na literatura nacional e internacional. Porém, apesar de encontrarmos pesquisas demonstrando uma correlação entre infecção por *H. pylori* e Vitamina B<sub>12</sub>, folato e hiper-homocisteinemia, não há, até o presente momento, um consenso definido e estudos que comprovem esta ocorrência em dispepticos funcionais em relação aos pacientes *H. pylori* erradicados.

Um estudo que avaliasse esta relação seria importante em termos de intervenções, pois, através da dieta ou suplemento, poderiam ser minimizados os sintomas e consequências de deficiência destes micronutrientes no indivíduo.

#### 4 QUESTÃO DE PESQUISA

Existe relação entre níveis de Vitamina B<sub>12</sub>, folato e Hcy na infecção por *H. pylori* quando comparados aos *H. pylori* erradicados em pacientes dispépticos funcionais?

## 5 HIPÓTESE

A erradicação da infecção por *H. pylori* melhora os níveis de vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína em relação ao pacientes *H. pylori* positivos na Dispepsia Funcional.

## 6 OBJETIVOS

### 6.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se a erradicação da infecção por *H. pylori* melhora os níveis de vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína em relação ao pacientes *H. pylori* positivos na Dispepsia Funcional.

### 6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar os níveis séricos de vitamina B<sub>12</sub>, Folato e Hcy nos pacientes *H. pylori* positivos em relação aos *H. pylori* erradicados;
- b) Comparar entre gêneros níveis de Vitamina B<sub>12</sub>, folato e homocisteína;
- c) Comparar separado por gênero níveis de homocisteína no grupo dos pacientes *H. pylori* positivos e *H. pylori* erradicados.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO

1. Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada Jr., Stanghellini V. Functional Gastrointestinal disorders. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1479.
2. Ling Lan, et al. Symptom-based tendencies of *Helicobacter pylori* eradication in patients with functional dyspepsia. *World Journal of Gastroenterology*. 2011; 17(27): 3242-3247.
3. Rothenbacher D, Brenner H. Burden of *Helicobacter pylori* and *H. pylori*-related diseases in developed countries: recent developments and future implications. *Microbes Infect*. 2003; 5: 693-703.
4. Eslick GD, Lim LLY, Byles JE, Xia HHX, Talley NJ. Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric carcinoma: a meta-analysis. *American Journal of Gastroenterology*. 1999; 94: 2373-79.
5. Yakkob J, Jafri W, Abid S. *Helicobacter pylori* infection and micronutrient deficiencies. *World J Gastroenterol*. 2003; 9: 2137-39.
6. Gumurdulu Y, Serin E, Ozer B, et al. Predictors of vitamin B12 deficiency: Age and *Helicobacter pylori* load of antral mucosa. *The Turkish Journal of Gastroenterology*. 2003; 14(1): 1-6/44-49.
7. McCully KS. Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86: 1563S-8S.
8. Neves LB, et al. Homocisteína. *J Bras Patol Med Lab*. 2004; 40(5): 311-20.
9. Selhub J. Public Health significance of elevated homocysteine. *Food Nutr Bull*. 2008; 29(2): 116-25.
10. Selhub J. The many facets hiperhomocysteinemia. Studies from the Framingham cohorts. *J. Nutr*. 2006; 136(6): 1726-1730.
11. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs Vitamin B12 and folate. *Clin Chem*. 2000; 46(8pt2): 1277-83.
12. Talley NJ, Stanghellini V, Heading RC, Koch KL, Malagelada Jr, Tytgat GN. Functional gastrointestinal disorders. *Gut*. 1999; 45(Suppl 2): 1137-42.
13. Agreus L. Natural history of dyspepsia. *Gut*. 2002; 50(4): 2-9.
14. Sharb Y, El-Serag ITB. The Prevalence and risk factors of functional dyspepsia in a multiethnic population in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99(11): 2010-6.
15. Talley NJ. Functional gastrointestinal disorders as a public health problem. *Neuro Gastroenterol Motil*. 2008; 20(suppl 1): 121-29.

16. Mahadeva S, Goh K. Epidemiology of functional dyspepsia: A global perspective. *World J Gastroenterol*. 2006; 12(7): 2661-6.
17. Halling K, Kulich K, Carlsson J, Wiklund I. An international comparison of the burden of illness in patients with dyspepsia. *Dig Dis*. 2008; 26: 264-73.
18. Okumura T, Tanno S, Ohhira M, Tanno S. Prevalence of functional dyspepsia in an outpatient clinic with primary care physicians in Japan. *J Gastroenterol*. 2010; 45: 187-94.
19. Rabeneck L, Graham DY. *Helicobacter pylori*: When to test when to treat. *Ann Intern Med*. 1997; 126 (4): 315-316.
20. Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni LE, Lopes MHI, Madi J. An unexpected high prevalence of non-investigated dyspepsia in Brazil: a population-based study. In: *Anais, 15th united european gastroenterology week, Paris; 2007*.
21. De Oliveira SS, Dos Santos IS, Silva JFP, Machado EC. Prevalência de dispepsia e fatores sócio-demográficos. *Rev Saúde Pública*. 2006; 40(3): 420-7.
22. Sander G, Mazzoleni L, Francesconi C, Balbinotto G, Mazzoleni F, Wortmann A, et al. Influence of organic and functional dyspepsia on work productivity: the HEROES-DIP study. *Value Health*. 2011; 5(1): 126-92
23. Marshall B. Unidentified curved bacilli in gastric epithelium in active gastritis. *Lancet*. 1983; 1: 1273-1274.
24. Skirrow M. Int. Workshop on Campylobacter Infection. *Lancet*. 1983; 2: 662.
25. Winn W Jr, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th edition. Lippincott Williams and Wilkins. 2006; 405-406.
26. Allen LH. Causes of vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency. *Food and Nutrition Bulletin*. 2008; 29 (2): S21-26.
27. Lehours P, Dupouy S, Bergey B, Ruskone-Foumestroux A, Delchier JC, Rad R, Richy FL, Tankovic J, Zerbib F, Megraud F, Menard A. Identification of a genetic marker of *Helicobacter pylori* strains involved in gastric extranodal marginal zone B-cell lymphoma of the MALT-type. *Gut*. 2009; 53: 931-7.
28. Akcam M. *Helicobacter pylori* and micronutrients. *Indian Pediatr*. 2010; 47: 119-26.
29. Cardenas VM, Mulla ZD, Ortiz M, Graham DY. Iron deficiency and *Helicobacter pylori* infection in the United States. *Am J Epidemiology*. 2006; 163: 127-134.
30. Gumurdulu Y, Serin E, Ozer B, et al. Impact of *H. pylori* on the development of vitamin B<sub>12</sub> deficiency in absence of gastric atrophy. *The Turkish Journal of Gastroenterology*. 2003; 14(1): 44-49..
31. Sarari AS, Farraj MA, Hamoudi W, Essa WI. TA: *Helicobacter Pylori*, a causative agent of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *J. Infect Dev Ctries*. 2008; 2: 346-9.

32. Kaptan K, Beyan C, et al. *Helicobacter pylori*: is it a novel causative agent in vitamin B<sub>12</sub> deficiency? Arch Int Med. 2000; 160: 12-16.
33. Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Kurtz JE, Noel E, Kaltenbach G, et al. Food-cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. Am J Med. 2005 Oct; 118(10): 1154-9.
34. Marino MC, de Oliveira CA, Rocha AM, Rocha GA, Clementino NC, Antunes LF, Oliveira RA, Martins AS, Del Puerto HL, D'Almeida V. Efeito a longo prazo de erradicação do *Helicobacter pylori* em níveis plasmáticos de homocisteína em pacientes idosos com cobalamina deficiência Gut. 2007; 56: 469-474.
35. Rasool S, Abid S, Iqbal MP, Mehboobali N, Haider G, Jafri W. Relationship between Vitamin B<sub>12</sub>, folate and homocysteine levels and *H. pylori* infection in patients with functional dyspepsia: A cross-section study. BMC Research Notes. 2012; 5: 206.
36. Bender DA. Nutritional Biochemistry of the Vitamins. 2nd Edition. Cambridge: University Press. 2003.
37. Aímone-Gastin I, Pierson H, Jeandel C, Bronowicki JP, Plénat F, Lambert D, et al. Prospective evaluation of protein bound vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) malabsorption in the elderly using trout flesh labeled in vivo with. Gut. 1997; 41(4): 475-479.
38. Baik HW, Russel RM. Vitamina B<sub>12</sub> deficiency in the elderly. Annu Rev Nutr. 1999; 19: 357-377.
39. Windsor HM, Abioye-Kuteyi EA, Lebor JM, Morrow SM, Bulsara MK, Marshall B J. Prevalence of *Helicobacter pylori* in indigenous Western Australians: Comparison between urban and remote rural populations. MJA. 2005; 182(5): 210-213.
40. Castro LP, Coelho LG. *Helicobacter pylori* in South America. Can J Gastroenterol. 1998; 12(7): 509-512.
41. Carmell R, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and food-cobalamin malabsorption. Dig Dis Sci. 1994; 39: 309-14.
42. Paniz C, Grotto D, Schmitt GC, et al. Fisiopatologia da deficiência de Vitamina B<sub>12</sub> e seu diagnóstico laboratorial. J Bras Patol Med Lab. 2005; 41(5): 323-34.
43. McNulty HH, Scott JM. Intake and status of folate and related B-vitamins: considerations and challenges in achieving optimal status. Br J Nutr. 2008; 99 (suppl 3): 548-54.
44. The Institute Of Medicine. Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Panthotenic acid, Biotin, and Choline. Whashington: National Academy Press. 2001.
45. Afman LA, et al. Reduced vitamin B<sub>12</sub> binding by transcobalamin II increases the risk of neural tube defects. Q J Med. 2001; 94(3): 159-66.
46. Ulleland M, et al. Direct assay for cobalamin bound to transcobalamin (holotranscobalamin) in serum. Clin Chem. 2002 Mar; 48(3): 526-32.

47. Cuskelly GJ, Mooney KM, Young IS. Folate and vitamin B<sub>12</sub>: friendly or enemy nutrients for the elderly. *Proc Nutr Soc.* 2007; 66(4): 548-58.
48. Watanabe F. Vitamina B<sub>12</sub> Sources and Bioavailability. *Exp Biol Med.* 2007; 232: 1266-74.
49. Carmel R, et al. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program).* 2003; pt2-81.
50. Andrès E, et al. Vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ.* 2004; 171(3): 251-9.
51. Green, Ralph. Indicators for assessing folate and vitamin b-12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(suppl): 666S-72S.
52. Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, application, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(suppl): 348S-58S.
53. Yetley EA, et al. Biomarkers of vitamin B-12 status in NHANES: a roundtable summary. *AM J Clin Nutr* 2011; 94: 313S-21S
54. Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med.* 1996; 156: 1097-100.
55. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. *Bioquímica Ilustrada.* 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2006. c. 28: Vitaminas.
56. Andrés E, Federici L, Affenberger S, et al. B<sub>12</sub> deficiency: a look beyond pernicious anemia. *J Farm Pract.* 2007; 56(7): 537-42.
57. Dali-Youcef N, Andrés E. Dali-Youcef N, Andrés E. An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM.* 2009; 102(1): 17-18.
58. Hin H, Clarke R, Sherliker P, et al. Clinical relevance of low serum vitamin B<sub>12</sub> concentrations in older people: the Banbury B<sub>12</sub> study. *Age Ageing.* 2006; 35: 416-22.
59. Andrès E, et al. Vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ.* 2004; 171(3): 251-9.
60. Clarke R, Refsum H, Birks J, et al. Screening for vitamin B-12 and folate deficiency in older persons. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77: 1241-47.
61. Verhaar MC, Stroes E, Habelink TJ. Folate and cardiovascular diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22: 6-13.
62. Konings EJ, Troost FJ, Castenmiller JJM, Roomans HHS, Van Den Brandt PA, Saris WHM. Intestinal absorption of different types of folate in healthy subjects with an ileostomy. *Br J Nutr.* 2002; 88(3): 235-42.

63. Alternative Medicine Review Monographs. 5-methyltetrahydrofolate. *Altern Med Rev.* 2006; 11(4): 222-9.
64. Delage B, Dashwood RH. Dietary manipulation of histone structure an function. *Annu Rev Nutri.* 2008; 28: 347-66.
65. Alternative Medicine Review Monographs. Folic Acid. *Altern med Rev.* 2005; 10(3): 222-9
66. Carmel R. Causes of vitamin B12 and folate deficiencies. *Food and Nutrition Bulletin.* 2008; 29(2): suplement.
67. Fora MA, Mohammad MA. High frequency of suboptimal serum vitamin B12 and folate deficiency in older persons. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77: 1241-47.
68. Vander JDJ, Spelman K, Ambe J, et al. Folate and vitamin B<sub>12</sub> status of adolescent girls in northern Nigeria. *J Natl Med Assoc.* 2000; 92: 334-40.
69. Monsen ALB, Ueland MP. Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. *Am J Clin Nutr.* 2003; 78(1): 7-21.
70. Xavier JM, Costa FF, Annichino-Bizzacchi, JM, Saad STO. High frequency of vitamin B<sub>12</sub> deficiency in a Brazilian population. *Public Health Nutrition.* 2010; 13(8): 1191-97.
71. Ramos MI, Allen LH, Mungas DM, Jagust WJ, Haan MN, Green R, Miller JW. Low folate status is associated with impaired cognitive function an dementia in the Sacramento Area Latino Study on Aging. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82(6): 1346-52.
72. Wahlin A, Backman L, Hultdin J, Adolfsson R, Lars-Goran NLG. Reference values for serum levels of vitamin B<sub>12</sub> an folic acid in a population-based sample of adults between 35 and 80 years of age. *Public Health Nutrition.* 2009; 5(3): 505-11.
73. Clarke R, Evans JG, Schneede J, Nexo E, Bates C, Fletcher A, et al. Vitamina B<sub>12</sub> an folate deficiency in later life. *Age Ageing.* 2004; 33(1): 34-41.
74. Lahner E, Persechino S, Annibale B. Micronutrientes (Other than iron) and *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter.* 2012; 17: 1-15.
75. Quinlivan EP, Mcpartlin J, McNulty H, Ward M, Strain JJ, Weir DG, 72, et al. Importance of both folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in reduction of risk of vascular disease. *Lancet.* 2002; 359(9302): 227-8.
76. Cole DEC, Langman LJ. Homocysteine: cholesterol of the 90s? *Clin Chim Acta.* 1999; 286(1-2): 63-80.
77. Moretti R, et al. Vitamin B<sub>12</sub> and folate depletion in cognition: a review. *Neurol India.* 2004; 52(3): 310-8.
78. Saw SM, Yuan JM, Ong CN, Arakawa K, Lee HP, Coetzee GA. Genetic, dietary and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in

middle-aged and other Chinese men and women in Singapore. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(2): 232-9.

79. Maron BA, Loscalzo J. The treatment of hyperhomocysteinemia. *Annu Rev Med.* 2009; 60: 39-54.
80. Selhub J, et al. B vitamins, homocysteine, and neurocognitive function in the elderly. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(suppl): 614S-20S
81. Guthikonda S; Haynes WG. Homocysteine: role and implications in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2006; 8(2): 100-6.
82. Venâncio LS, Burini RC, Yoshida WB. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. *J Vasc Br.* 2004; 3(1): 31-7.

**8 ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS**

**TARGET JOURNAL:**

**CONFORME AS NORMAS DO PERIÓDICO *DIGESTIVE DISEASE AND SCIENCES***

**Serum levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine in functional dyspeptic patients one year after the eradication of *Helicobacter pylori***

Marise dos Santos Aguiar R.D.<sup>a,c</sup>, Luiz Edmundo Mazzoleni M.D, PhD.<sup>b,c</sup>, Tobias Cancian Milbradt MSc.<sup>c</sup> Guilherme Becker Sander M.D., PhD.<sup>a,c</sup>

Affiliations:

<sup>a</sup> Post-Graduate Program: Gastroenterology and Hepatology Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, Brazil.

<sup>b</sup> Gastroenterology Department, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>c</sup> Clinical Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Corresponding author:

Marise dos Santos Aguiar

Adress: Rua Lobo da Costa 306, Azenha, Porto Alegre, RS, Brasil.

CEP: 90050-110.

e-mail: marisesa13@gmail.com

Phone: 55 51 96252809



**Serum levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine in functional dyspeptic patients one year after the eradication of *Helicobacter pylori***

**ABSTRACT**

**Introduction:** Functional dyspepsia is a highly prevalent disease worldwide and has great social and economic impact. The infection by *Helicobacter pylori* (*h. pylori*) has a role in the pathogenesis of functional dyspepsia and has also been suggested as an important agent in the etiology of low levels of vitamin B<sub>12</sub> and folate. The hyperhomocysteinemia, secondary to Vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiencies, maybe at risk for cardiovascular diseases.

**Objective:** To investigate the serum levels of Vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine (Hcy), and the *H. pylori* infection in functional dyspepsia.

**Methodology:** It was included a group 154 of functional dyspeptic patients, following the ROME III criteria. The dyspeptic patients who were positive for *H. pylori* porbiópsias gástricas were randomized to eradication of the bacteria with oral antibiotic therapy or placebo. The patients performed a second endoscopy after twelve months with the same methodology. Of the total sample, 77 patients remained positive for *H. pylori* and 77 patients had as a result the eradication of *H. pylori* bacteria, that is, they became negative. The biological material was previously collected and stored, besides its demographic and clinical data. The material was measured in the serum levels of vitamin B<sub>12</sub> and folate and in the serum levels of homocysteine.

**Results:** Considering the sample, 77 patients were positive for *H. pylori* (15 men, 62 women) and 77 patients were eradicated *H. pylori* (21 men, 56 women). The average age of the sample was  $47,8 \pm 11,5$  years. Regarding age and gender, it was not observed significant difference between the groups ( $p > 0,05$ ). Concerning the results gathered into categories, as the cut-off points used in the literature, it was not observed statistically significant difference between the two groups of patients ( $p > 0,6$ ). There was no correlation between age and Vitamin B<sub>12</sub> levels ( $p = 0,924$ ); also, there was no correlation between the levels of Hcy and the groups for both genders ( $p > 0,5$ ). There was no difference between gender and Vitamin B<sub>12</sub> ( $p = 0,584$ ) and folate ( $p = 0,312$ ); there was difference for the levels of Hcy ( $p = 0,035$ ). Regarding the levels of homocysteine the values were higher for men.

**Conclusions:** It was not observed any significant relationship among the serum of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and Hcy, and the *H. pylori* infection.

**Keywords:** Dyspepsia; Folate, *Helicobacter pylori*; Homocysteine; Vitamin B<sub>12</sub>.

## INTRODUCTION

Functional dyspepsia can be defined as a broad spectrum of recurring and chronic upper gastrointestinal symptoms, with the absence of any organic or metabolic change [1].

The infection by *Helicobacter pylori* has a role in the pathogenesis of Functional Dyspepsia and the detection and eradication of the bacteria are carried out for the treatment of FD through well-established medical interventions [2]. The infection by *H. pylori* can lead to chronic inflammation and gastritis, development of

peptic ulcer and gastritis, gastric carcinoma, and deficiency of micronutrients [3]. It has also been suggested in the involvement of the etiology of low levels of vitamin B<sub>12</sub>[4].

Vitamin B<sub>12</sub>, or cobalamin, is a water-soluble vitamin, a complex molecule that cannot be synthesized by human metabolism, and must, therefore, be supplemented through the diet of food of animal origin. It has relevant functions, such as in deoxyribonucleic acid (ADN) replication, synthesis of red blood cells, and the maintenance of myelin sheath surrounding nerve cells [5]. The folate works in synergy with vitamin B<sub>12</sub> and has a prominent role in the metabolism of homocysteine. In the body, it is converted to a biologically active form named tetrahydrofolate (THF). It participates in important functions in the body such as: the closure of the neural tube in a fetus, the maturation red blood cells, and protein synthesis [6]. There are several causes of vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiencies. The main causes are: reduced food intake, malabsorption, and increased needs [7].

The Homocysteine is a sulfur-containing amino acid formed from the demethylation of methionine from diet or its catabolism [8]. The presence of Vitamin B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, and folic acid is essential to Hcy metabolism, and the deficiency of one or more of these nutrients is associated with varying degrees of elevated plasma Hcy levels [9]. The hyperhomocysteinemia, secondary to deficiency of these two vitamins, may present a risk for cardiovascular diseases [4]. Studies have shown that the deficiency of vitamin B<sub>12</sub> is directly involved in the development of cardiovascular diseases related to the increase of plasma Hcy levels [10, 11, 12]. The objective of this study was to analyze the serum levels of Vitamin B<sub>12</sub>, folate and Hcy in *H. pylori* infection in relation to patients with *H. pylori* eradication in functional dyspepsia. Although there is a growing number of studies showing a correlation between *H.*

*pylori* infection and the levels of Vitamin B<sub>12</sub>, folate, and hyperhomocysteinemia as a result of the deficiency of these two micronutrients, there is not, until this moment, a definite consensus and studies that prove the relationship.

## **METHODOLOGY**

### **Obtaining the sample**

The group of dyspeptic patients was composed by adults, living in the metropolitan region of Porto Alegre city, Rio Grande do Sul (Brazil), with digestive complaints, whose diagnosis evaluation (upper digestive endoscopy test) filled the criteria for the establishment of functional dyspepsia diagnostics, in accordance with ROME III Consensus (ROME III) [1]. The 154 functional dyspeptic patients originated from the double-blind randomized clinical trial HEROES [13] (*Helicobacter Eradication Relief of Dyspeptic Symptoms*) – ClinicalTrials.gov number NCT00404534. They were recruited between November, 2006, and June, 2008, at Hospital de Clínicas de Porto Alegre. In the HEROES study, the patients who presented positive *H. pylori* (by gastric tissue biopsy) were randomized to eradication of the bacteria with oral antibiotic therapy or placebo. The patients performed a second endoscopy test after twelve months with the same methodology. Among the positive *H. pylori* patients who completed the evaluation time, two sub-samples were selected: the first one was composed by 77 patients who remained positive *H. pylori* after the treatment, and a second one composed by 77 patients who, after one year of treatment, had the bacteria eradicated. These patients represent the full sample of HEROES-trial study [13] for which there were blood samples, previously collected

and frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  in Ependorf. The samples of patients who opted, by the respective term of Informed Consent (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE), for not using biochemical, hormonal or genetic dosages in their biological material collected previously were excluded.

### **Study procedures (methods of measurement)**

Measurements, in the 154 samples, were performed in the serum (0.4 mL each sample) levels of Vitamin B<sub>12</sub> and folic acid through the method of electrochemiluminescence (ECLIA), ADVIA Centaur system and ADVIA Centaur XP, and in the serum levels of Homocysteine, using the chemiluminescence method with the Immulite 2000-Siemens analyzer.

### **Sample size**

The samples available in the HEROES study were estimated at 180 functional dyspeptic individuals infected with *H. pylori* and eradicated *H. pylori*. In order to obtain a significance level of 5% and a statistical power of 80%, the study by Rasool et al. [14] was used as reference, which has a standard deviation (SD) of 170 in the variable Vitamin B<sub>12</sub> for positive *H. pylori* and a SD of 136 for negative *H. pylori*. In order to detect a difference of 70 pg/ml, the estimate for sample calculation was of 154 individuals, 77 positive *H. pylori* and 77 eradicated *H. pylori*.

## Statistical analysis

The statistics were performed using the software SPSS Statistics for Windows, version 19.0. The results were described using mean  $\pm$  standard deviation for the quantitative variables (and maximum values, considering the asymmetrical variables); and frequency and percentage for qualitative variables. The evaluation of the differences between groups for quantitative variables was performed using the test t (folic acid) or the Mann-Whitney test (Vitamin B<sub>12</sub> and Hcy), depending on the distribution of the variable; for categorical variable was used the Chi-square test. In order to measure the relationship between the levels of Vitamin B<sub>12</sub> and age, it was used the Spearman correlation. The value P = 0,05 was considered the limit for statistical significance.

## Results

### Sample description

Of the total sample, 76% of the patients were women and 80% Caucasian. The mean  $\pm$  standard deviation for age was 47,8  $\pm$  11,5 years. For all these variables, there was no statistically significant difference between positive and eradicated *H. pylori* patients (P > 0,070).

Table 1 shows the information on the age and gender separately for positive *H. pylori* patients and eradicated *H. pylori* patients. There is no statistically significant difference between the groups (P > 0,05).

**Table 1** - Comparison between positive *H. pylori* and eradicated *H. pylori* by age and gender

Variable	<i>H. pylori</i> positive (n=77)	<i>H. pylori</i> eradicated (n=77)	P
<b>Age</b> (mean ± SD)	48,1 ±12,5	47.5 ±10,4	0,760*
<b>Female sex</b> (number and %)	62 (80,5%)	56 (72,7%)	0,341**

*P*\*=test t; *P*\*\*= test Chi-square

The results for the levels of vit B<sub>12</sub>, folate, and Homocysteine are shown in Table 2. Table 3 shows the results divided into categories, in accordance with the cut-off points present in the literature. In any specification of evaluation was observed statistically significant difference between the two groups of patients ( $P > 0,6$  for all cases). There was no correlation between age and the levels of vitamin B<sub>12</sub> (Spearman correlation coefficient:  $r_s = 0,008$ ;  $P = 0,924$ ).

**Table 2** - Levels of Vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine in positive *H. pylori* and eradicated *H. pylori* patients in functional dyspepsia

Variable	<i>H. pylori</i> positive (n=77)	<i>H. pylori</i> eradication (n=77)	P
<b>VIT B<sub>12</sub>(pg/ml)</b> mean (±SD)	413,9 ±138,4	432,9 ±244,7	0,911*
<b>Folate (ng/ml)</b> mean (±SD) median (maximum)	12,75 ±3,74 12,80 (4,2-22,5)	12,9 ±3,95 12,80 (4,0-25,5)	0,736**
<b>Homocysteine (µmol/L)</b> mean (±SD)	8,98 ±2,28	9,18±2,97	0,712*

*P*\* =test Mann Whitney; *P*\*\*= test t

**Table 3** - Deficiency of vitamin B<sub>12</sub> and folate and hyperhomocysteinemia positive *H. pylori* and eradication *H. pylori* patients with functional dyspepsia

	<i>H. pylori</i> positive (n=77) n (%)	<i>H. pylori</i> eradication (n=77) n (%)	<i>P</i>
<b>VitB<sub>12</sub>deficient</b> ( <b>&lt; 200 pg/ml</b> )	0	1 (1%)	1.000*
<b>Vit B<sub>12</sub>-margindeficiency</b> ( <b>200-300 pg/ml</b> )	14(18%)	17(22%)	0,688*
<b>Vit B<sub>12</sub>normal</b> ( <b>&gt;300 pg/ml</b> )	63(81,8%)	60(77,9%)	0,688*
<b>Folatedeficient</b> ( <b>≤3,5 ng/ml</b> )	0	0	-
<b>Hyperhomocysteinemia</b> ( <b>&gt;15 μmol/L</b> )	2(2,6%)	2(2,6%)	1.000*

*P*\*= test Chi-square

The percentage of patients with a margin of deficiency de vit. B<sub>12</sub> (200- 300 pg/ml) was higher compared to patients with deficiency de vit. B<sub>12</sub> (< 200 pg/ml).



**Table 4** - Comparison between genders regarding the levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine

<b>Variable</b>	<b>MEN (n=36)</b>	<b>WOMEN (n=118)</b>	<b>P</b>
<b>VIT B<sub>12</sub>(pg/ml)</b>			
mean (±SD)	438,1±219,5	418,9±192,2	0,584*
<b>Folate (ng/ml)</b>			
mean (±SD)	12,28±3,61	13,03±3,90	0,312**
median (maximum)	12,86; (5,70-9,0)	12,80; (4,0-5,50)	
<b>Homocysteine (µmol/L)</b>			
mean (±SD)	9,98±2,82	8,84±2,54	0,035*

**P\***= test Mann Whitney; **P\*\***= test t

There was no difference between genders regarding the levels of vitamin B<sub>12</sub> and folate ( $P > 0,30$ ), but the values for Hcy were higher in men ( $P = 0,035$ ). It was found a difference of homocysteine plasma concentrations 13% higher in men. This result is in agreement with the literature that observed higher levels of homocysteine in men than in women and that men would have an average of 21% higher levels than women [8].

**Table 5** - Comparison between the levels of homocysteine and positive *H. pylori* and eradicated *H. pylori* patients divided by gender

Gender	n	<i>H. pylori</i> positive (n=77)	n	<i>H. pylori</i> eradication (n=77)	P
<b>Men (n=36)</b>					
mean±SD	15	10,1 ± 2,58	2 1	9,7 ± 3,03	0,526*
<b>Women (n=118)</b>					
mean±SD	62	8,7 ± 2,13	5 6	9,0±2,95	0,603*

**P\* = teste Mann Whitney**

There was no difference between the levels of homocysteine and positive *H. pylori* and eradicated *H. pylori* patients divided by gender.

## DISCUSSION

This study analyzed the relationship among vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine in the infection by *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) in relation to patients who had the bacteria eradicated and the ones who remained positive after one year of treatment in functional dyspeptic patients. In all cases, it was not observed statistically significant difference between the two groups of patients.

The infection by *Helicobacter pylori* has a role in the pathogenesis of Functional Dyspepsia and the detection and eradication of the bacteria are carried out for the treatment of FD through well-established medical interventions [2]. *H. pylori* can cause the malabsorption of vitamin B<sub>12</sub> for originating an environment hypochlorhydria associated with atrophic gastritis, thus hampering vitamin B<sub>12</sub> release from protein-containing foods for later union with haptocorrin (salivar binding

protein of vitamin B<sub>12</sub>). However, these physiopathological mechanisms, by which the infection of *H. pylori* is related to the etiology of vitamin B<sub>12</sub> deficiency, are not entirely clear [14]. In accordance with the concept by the World Health Organization (WHO), the deficiency of Vitamin B<sub>12</sub> is a chronic process, of a slow start, in which the imbalance of the serum levels may take several years to establish a clear clinical manifestation in biochemical tests [16].

This study found similar results to the one carried out by Rassol et al. [14]. The authors analyzed 130 patients, 80 positive *H. pylori* and 50 negative *H. pylori*, showing an inverse relationship between the levels of vitamin B<sub>12</sub> and Hcy in patients with functional dyspepsia (FD). However, they did not find statistical significance in the presence of *H. pylori* positive regarding serum levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine in relation to *H. pylori* negative in patients with Functional Dyspepsia. Other studies have shown a significant relationship among the serum levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and homocysteine in the patients with *H. pylori* positive in relation to the patients with *H. pylori* negative in Functional Dyspepsia. Sarari et al. [17] analyzed 60 individuals for *H. pylori* infection and the measurements of serum levels of Vitamin B<sub>12</sub>. Values below 200 pg/ml were found in 67, 4% (29) of the 43 patients infected with *H. pylori*. This study found a significant association between patients infected by *H. Pylori* and Vitamin B<sub>12</sub> compared to non-infected patients ( $p < 0.05$ ). A recent systematic review and meta-analysis evaluated the association of *H. pylori* and the serum levels of Vitamin B<sub>12</sub> in 17 studies involving 2,454 patients. The serum levels of Vitamin B<sub>12</sub> were significantly lower in the infected patients than in non-infected, and the eradication of *H. pylori* revealed a significant increase in cobalamin levels [18]. Another study evaluated the concentrations of Hcy and cobalamin before the eradication and after six and twelve months after the eradication of *H. pylori* in 62

elderly patients, concluding that the eradication of *H. pylori* in patients with low levels of cobalamin prior to the eradication had an improvement of Vitamin B<sub>12</sub> levels and a reduction of Hcy levels in the blood [19]. The question that remains controversial is because only a few patients manifest relationship while others have different or any condition associated with *H. pylori* or even why some infections are asymptomatic [14].

Regarding the results of folate levels, patients with levels below the cutoff point considered as deficiency were not found. The overall implementation of folic acid fortification programs in many countries reduced the prevalence of folate deficiency worldwide [20]. A study with Brazilian adults reported that folate deficiency was not detected, this would be due to the supplementation of Brazilian flour with folic acid, but the vitamin B<sub>12</sub> deficiency was found in more than 6% of the sample population [21]. It was found a difference of homocysteine plasma concentrations 13% higher in men in the current study. This result is in agreement with the literature that observed higher levels of homocysteine in men than in women and that men would have an average of 21% higher levels than women [8].

In the present study, it is possible to consider some limitations: the levels of VitaminB<sub>12</sub> and folate, prior to the treatment of *H. pylori*, in both groups, were not analyzed; thus, it was not possible to analyze if the statistical insignificance was due to the improvement of serum levels of these micronutrients, as a result of the eradication, or if the patients had appropriate biochemical parameters prior to treatment and remained so after one year.

The conclusions in the current study are in agreement with the contemporary literature, as the association between the infection by *H. pylori* and the levels of vitamin B<sub>12</sub>, folate, and hyperhomocysteinemia in relation to patients with eradicated

or negative *H. pylori* in Functional Dyspepsia it is still a theme that remains uncertain. More studies are needed to explain and support this possible association

## REFERENCES

1. Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada J, et al. Functional Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology*. 2006; 130(5): 1466-79.
2. Ling Lan, et al. Symptom-based tendencies of *Helicobacter pylori* eradication in patients with functional dyspepsia. *World Journal of Gastroenterology*. 2011; 17(27): 3242-3247.
3. Rothenbacher D, Brenner H. Burden of *Helicobacter pylori* and *H. pylori*-related diseases in developed countries: recent developments and future implications. *Microbes Infect*. 2003; 5: 693-703.
4. Akcam M. *Helicobacter pylori* and micronutrients. *Indian Pediatr*. 2010; 47: 119-26
5. Gumurdulu Y, Serin E, Ozer B, et al. Predictors of vitamin B12 deficiency: Age and *Helicobacter pylori* load of antral mucosa. *The Turkish Journal of Gastroenterology*. 2003; 14(1): 1-6/44-49.
6. Green, Ralph. Indicators for assessing folate and vitamin b-12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. *Am J Clin Nutr*. 2011; 94(suppl): 666S-72S.
7. Green R. Folate, cobalamin, and megaloblastic anemias: Kaushansky K, Beutler E, Seligsohn U, Lichtman MA, Kipps TJ, Prchal JT, editors. *Williams hematology*. 8th ed, Chapter 41 New York, NY: McGraw-Hill, 2010: 533-63.
8. Neves LB, et al. Homocisteína. *J Bras Patol Med Lab*. 2004; 40(5): 311-20.

9. McCully KS. Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention. *Am J Clin Nutr.* 2007; 86: 1563S-8S.
10. McNulty HH, Scott JM. Intake and status of folate and related B-vitamins: considerations and challenges in achieving optimal status. *Br J Nutr.* 2008; 99 (suppl 3): 548-54.
11. Selhub J. Public Health significance of elevated homocysteine. *Food Nutr Bull.* 2008; 29(2): 116-25.
12. Selhub J. The many facets hiperhomocysteinemia. Studies from the Framingham cohorts. *J. Nutr.* 2006; 136(6): 1726-1730.
13. Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, et al. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia: HEROES trial. *Arch Intern Med.* 2011; 171(21): 1929-36.
14. Rasool S, Abid S, Iqbal MP, Mehboobali N, Haider G, Jafri W. Relationship between Vitamin B12, folate and homocysteine levels and *H. pylori* infection in patients with functional dyspepsia: A cross-section study. *BMC Research Notes.* 2012; 5: 206
15. Correa P, Piazeulo MB. História natural da infecção pelo *Helicobacter pylori*. *Dig Liver Dis.* 2008; 40: 490-496
16. Iron deficiency anemia assessment, prevention, and control. Geneva: World Health Organization. Available from: [http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida\\_assessment\\_prevention\\_control.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf). 2001.
17. Sarari AS, Farraj MA, Hamoudi W, Essawi TA. *Helicobacter pylori*, a causative agent of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *J. Infect Dev Countries.* 2008; 2: 346-9.

18. Lahner E, Persechino S, Annibale B. Micronutrientes (Other than iron) and *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter*. 2012; 17: 1-15.
19. Marino MC, de Oliveira CA, Rocha AM, et al. Efeito a longoprazo de erradicação do *Helicobacter pylori* em níveis plasmáticos de homocisteína em pacientes idosos com deficiência de cobalamina. *Gut*. 2007; 56: 469-474.
20. Berry RJ, Mulinare J, Hamner HC. Folic Acid Fortification. Neural tube defect risk reduction a global perspective. Bailey LB, editor. *Folate in health and disease*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010:179–204
21. Xavier JM, Costa FF, Annichino-Bizzacchi, JM, Saad STO. High frequency of vitamin B<sub>12</sub> deficiency in a Brazilian population. *Public Health Nutrition*. 2010; 13(8): 1191-97.

## 9 CONCLUSÕES

Na amostra estudada não foi encontrada nenhuma associação ou evidência entre infecção por *H. pylori* e deficiência de vitamina B<sub>12</sub>, folato e hiperhomocisteinemia secundária à deficiência destes micronutrientes em relação aos pacientes *H. pylori* erradicados na Dispepsia Funcional.

Foi encontrado um estudo na literatura que está em acórdância com os resultados encontrados na presente pesquisa e por outro lado, vários estudos que encontraram uma associação relevante. Diferentes metodologias são utilizadas e a população estudada pode originar diferentes resultados, como por exemplo, em relação à amostra, alguns estudos selecionaram pacientes *H. pylori* negativo e outros *H. pylori* erradicados e ainda, o ponto de corte utilizado também pode colaborar para resultados diversos.

Pesquisas futuras são necessárias para desvendar com mais eficácia os mecanismos fisiopatológicos pelos quais a infecção por *H. pylori* está relacionada com a etiologia da deficiência da Vitamina B<sub>12</sub>, folato e Hhcy secundária à deficiência destes micronutrientes e esclarecer também o porquê alguns pacientes manifestam relação enquanto outros nenhuma condição associada à infecção por *H. pylori*.



## **10 PERSPECTIVAS**

Apesar de uma amostra significativa, não foi possível sustentar a associação proposta pelo presente estudo. O Estudo HEROES possui um vasto banco, onde é possível extrair muitos dados da população de dispépticos funcionais e continuar investigando e seguindo nesta linha de pesquisa ,originando assim novos estudos.

## **11 FONTE DE FINANCIAMENTO**

Este estudo foi financiado pelo FIPE, Fundação de Incentivo à Pesquisa e Eventos do HCPA.

Conflito de interesses: não há.

**12 ORÇAMENTO**

<b>Material</b>	<b>Valor unitário (R\$)</b>	<b>Valor total (R\$)</b>
Vitamina B <sub>12</sub>	9,95	1.532,30
Ácido fólico	8,50	1.309,00
Homocisteína	20,18	3.107,72
Material de escritório	20,00	20,00
<b>TOTAL</b>		5.969,02

**13 ANEXOS**

## ANEXO A



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**COMISSÃO CIENTÍFICA**

A Comissão Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre analisou o projeto:

**Projeto:** 130325

**Data da Versão do Projeto:**

**Pesquisadores:**

GUILHERME BECKER SANDER

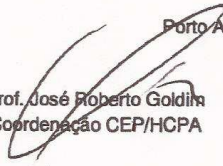
MARISE DOS SANTOS AGUIAR

**Título:** Relação entre níveis de Vit. B12 e infecção por *Helicobacter Pylori* em pacientes com dispepsia funcional

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.  
Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG)

Porto Alegre, 12 de setembro de 2013.

  
Prof. José Roberto Goldim  
Coordenação CEP/HCPA

## ANEXO B

**Convite para participação no estudo:****ERRADICAÇÃO DO *HELICOBACTER PYLORI* NA DISPEPSIA FUNCIONAL**

A dispepsia funcional é uma das doenças mais frequentes da medicina. Vários trabalhos de pesquisa, em diferentes países, demonstraram que os pacientes com dispepsia funcional com muita frequência possuem uma bactéria no estômago, chamada *Helicobacter pylori*. Ainda não está definido cientificamente se essa bactéria é uma das causas dos sintomas da dispepsia funcional e se a eliminação da infecção melhora os sintomas desses pacientes.

O Hospital de Clínicas de Porto Alegre está realizando um trabalho de pesquisa sobre a eliminação da bactéria *Helicobacter pylori* nos pacientes com dispepsia funcional. O objetivo principal deste trabalho é observar se o tratamento melhora os sintomas digestivos desses pacientes.

Se pretende, assim, obter conclusões que poderão beneficiar os pacientes dispepticos funcionais. Para que os resultados da pesquisa possam ser considerados válidos para a população em geral, estamos selecionando um grande número de pacientes (cerca de quatrocentos).

Caso concorde, o início de sua participação no estudo se dá com a realização de uma consulta médica que irá avaliar o seu estado de saúde, a presença e intensidade dos sintomas digestivos, a avaliação da sua qualidade de vida e dos custos da sua doença, através de questionários. Após essa consulta inicial será solicitada uma endoscopia digestiva alta com biópsias do estômago (retirada de pequenos fragmentos do estômago para avaliar no microscópio). Caso o resultado do exame para a bactéria seja positivo, o Sr./Sra. poderá fazer parte do grupo de pacientes que vão participar da pesquisa, desde que preencha todos os critérios da pesquisa. Caso seja incluído entre os participantes, você irá iniciar o tratamento para combater o *Helicobacter pylori*, com os medicamentos fornecidos pela pesquisa. Os medicamentos serão fornecidos numa segunda consulta, após a endoscopia. O tratamento é feito com 3 medicações diferentes, que deverão ser tomadas durante 10 dias (2 vezes por dia). Os medicamentos são dois antibióticos (amoxicilina e claritromicina) associados com um medicamento contra a acidez do estômago (omeprazol). Este é o esquema atualmente mais utilizado para o tratamento da bactéria, em todo o mundo.

Para que se possa conhecer o verdadeiro efeito do tratamento da bactéria sobre os sintomas do estômago, metade dos pacientes irá receber os medicamentos descritos acima (com os dois antibióticos) e a outra metade irá receber o omeprazol associado a dois "falsos" antibióticos chamados de PLACEBOS. Placebos são cápsulas que não contêm a medicação ativa, mas que tem a aparência absolutamente igual às cápsulas dos dois antibióticos. É importante lembrar que, para que não exista nenhuma influência nos resultados, nem os pacientes nem os médicos terão conhecimento do conteúdo das cápsulas. No final da pesquisa, todos os médicos e pacientes saberão se a bactéria foi eliminada ou não. Dependendo das conclusões do estudo, saberemos se o tratamento realmente está indicado ou não para melhorar os sintomas dos pacientes.

Você deverá evitar o uso de outras medicações durante o período em que estiver participando do estudo, que terá a duração de 12 meses. Caso necessite, deverá entrar em contato com os médicos responsáveis, vindo ao ambulatório em qualquer dia, mesmo que você não tenha consulta marcada, ou por telefone. Alguns medicamentos serão permitidos pela pesquisa (Famox e D(+)-plus) os quais serão liberados para uso apenas SE NECESSÁRIO caso você tenha sintomas digestivos. Esses medicamentos serão fornecidos para todos os

EXEMPLO  
 12/11/2001  
 12/11/2001  
 12/11/2001

pacientes, juntamente com um calendário para a marcação dos dias em que a medicação precisou ser utilizada. Os medicamentos que já vinham sendo utilizados, e que não foram proibidos pelos pesquisadores, deverão ser continuados normalmente.

Durante o estudo serão realizadas mais três consultas, além das duas iniciais. Uma será 4 meses e as outras 8 e 12 meses após o final do tratamento com os antibióticos (ou com os placebos). Nas consultas serão aplicados questionários sobre os sintomas, sobre a qualidade de vida, sobre o seu estado emocional e sobre os custos da sua doença. O estudo também irá avaliar o problema das aftas da boca. Na segunda e na última consulta serão realizados testes para avaliar o funcionamento do seu estômago através da ingestão de líquidos. Nestas duas consultas também serão realizados exames de sangue e de fezes para avaliar o seu estado clínico e nutricional. O seu sangue deverá ser armazenado para análises posteriores. O Sr. (Sra.) terá acesso aos resultados desses exames caso seja do seu interesse, bastando para tanto que o Sr. (Sra.) faça essa solicitação à equipe de pesquisa. Nenhum outro tipo de análise será realizada sem a sua autorização por escrito.

Durante o estudo serão realizadas duas endoscopias digestivas altas com biópsias do estômago e do duodeno. A primeira será antes de receber os medicamentos do estudo, e a última 12 meses após o tratamento. Nesses exames será realizada a pesquisa do *Helicobacter pylori* e a avaliação do seu estômago e duodeno. As endoscopias serão realizadas sob sedação (remédio que faz dormir). Depois que você dormir, o médico introduzirá pela sua boca uma sonda que vai descer até o duodeno. No percurso da sonda, o médico verifica se há lesões, como gastrites, úlceras e outras doenças. Durante a endoscopia, o médico irá fazer biópsias (que é a retirada de pequenos fragmentos do revestimento do seu estômago e do seu duodeno para complementar o seu exame). A realização de biópsias não provoca dor e têm riscos muito pequenos de sangramento, que, se ocorrer, poderá ser controlado durante o próprio procedimento. A realização de biópsias de estômago é um procedimento de rotina durante realização de endoscopias digestivas quando o endoscopista julga necessária uma avaliação mais adequada do revestimento do estômago. Dependendo do tipo de lesão encontrada você não poderá participar do estudo, e será encaminhado para tratamento da lesão encontrada.

As informações individuais levantadas pela pesquisa são de caráter estritamente confidencial. Os dados coletados serão agrupados e expressos através de resultados numéricos, sem qualquer referência a elementos que possam identificar os participantes do estudo.

Todas as despesas relacionadas ao custo das medicações, consultas e exames diagnósticos serão cobertas por verbas próprias do Projeto de Pesquisa.

Caso você quiser retirar-se do estudo durante o seu andamento, terá total liberdade para fazê-lo, sem que isso prejudique a continuidade do seu acompanhamento médico no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, caso você já seja paciente desse hospital.

Os médicos responsáveis estão à sua disposição para o esclarecimento de quaisquer dúvidas.

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PESQUISA: ERRADICAÇÃO DO *HELICOBACTER PYLORI* NA DISPEPSIA FUNCIONAL

GPPG 05422

FICHA# \_\_\_\_\_

PACIENTE \_\_\_\_\_

### JUSTIFICATIVA:

A dispepsia funcional é uma doença muito frequente, assim como a infecção pelo *Helicobacter pylori*. Ainda não foi definido se a erradicação da bactéria beneficia os sintomas dispépticos. Essa pesquisa irá avaliar se a erradicação do *Helicobacter pylori* melhora os sintomas de pacientes com dispepsia funcional.

Os participantes deste estudo serão pacientes dispépticos funcionais portadores do *Helicobacter pylori* atendidos no HICPA. Os pacientes irão receber os seguintes esquemas terapêuticos: omeprazol, amoxicilina e claritromicina ou omeprazol e placebo dos antibióticos. Serão monitorizados com consultas para avaliação clínica, mensuração dos sintomas, avaliação da qualidade de vida além de avaliação econômica. Irão realizar testes funcionais do estômago, com teste de ingestão de líquidos. Também irão realizar avaliação endoscópica e histológica do estômago. Os pacientes serão acompanhados por 12 meses após o tratamento.

A assinatura desse consentimento informado dará autorização aos pesquisadores do estudo de utilizarem os dados obtidos somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

Eu, \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada, conforme especificados em Convite para participar do estudo (em anexo). Recebi informações específicas sobre os procedimentos diagnósticos e tratamento aos quais serei submetido(a).

Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, tenho liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa durante o andamento da mesma.

O profissional \_\_\_\_\_ certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado(a) que todos os custos relacionados a exames diagnósticos e tratamento médico serão cobertos por verbas próprias do Projeto de Pesquisa.

Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

Assinatura dos participantes:

PACIENTE \_\_\_\_\_

TESTEMUNHA (nos casos especiais) \_\_\_\_\_

INVESTIGADOR \_\_\_\_\_

ORIENTADOR / COORDENADOR DO PROJETO \_\_\_\_\_

Dr. Luiz Edmundo Mazzoleni; Fone 21018307

Versão 2 de 11 de outubro de 2006

HICPA / GPPG  
VERSÃO APROVADA  
11/10/06  
N. 05422

GPPG - Recebido

11 OUT. 2006

Por \_\_\_\_\_ N. 05422



## ANEXO C

## Convite para participação no estudo:

Influências genéticas na taxa de erradicação do *Helicobacter pylori* e nos sintomas clínicos em pacientes com dispepsia funcional

**Projeto vinculado ao Estudo Clínico "ERRADICAÇÃO DO *HELICOBACTER PYLORI* NA DISPEPSIA FUNCIONAL" aprovado no GPPG do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (nº 05-422)**

A dispepsia funcional é uma das doenças mais freqüentes da medicina. Vários trabalhos de pesquisa, em diferentes países, demonstraram que os pacientes com dispepsia funcional com muita freqüência possuem uma bactéria no estômago, chamada *Helicobacter pylori*. Ainda não está definido cientificamente se essa bactéria é uma das causas dos sintomas da dispepsia funcional e se a eliminação da infecção melhora os sintomas desses pacientes.

O Hospital de Clínicas de Porto Alegre está realizando um trabalho de pesquisa sobre a eliminação da bactéria *Helicobacter pylori* nos pacientes com dispepsia funcional, do qual você está participando. O objetivo principal do estudo é observar se o tratamento melhora os sintomas digestivos dos pacientes. Assim, se pretende obter conclusões que poderão beneficiar os pacientes com dispepsia funcional. Visando obter maiores informações sobre fatores que podem influenciar no tratamento da dispepsia funcional, estamos realizando um novo estudo junto aos pacientes participantes do projeto inicial. Este novo estudo envolverá a análise de regiões do seu material genético (DNA) que podem estar influenciando a resposta à medicação utilizada no estudo, bem como a melhora nos sintomas clínicos após o tratamento.

Para a análise dos genes será feita uma coleta de sangue. Essa quantidade é pequena (5 mL), e por isso, dificilmente causará algum mal-estar, no entanto poderá haver um pequeno incômodo ou dor no momento da coleta (introdução da agulha para retirada do sangue).

As informações individuais levantadas pela pesquisa são de caráter estritamente confidencial. Os dados coletados serão agrupados e expressos através de resultados numéricos, sem qualquer referência a elementos que possam identificar os participantes do estudo.

Todas as despesas relacionadas ao custo das medicações, consultas e exames diagnósticos serão cobertas por verbas próprias do Projeto de Pesquisa.

Caso você quiser se retirar do estudo durante o seu andamento, terá total liberdade para fazê-lo, sem que isso prejudique a continuidade do seu acompanhamento médico no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, caso você já seja paciente desse hospital.

Os médicos responsáveis estão à sua disposição para o esclarecimento de quaisquer dúvidas.

HCPA / GPPG  
VERSÃO APROVADA  
20/12/2007  
WV 07590

GPPG - Recebido  
20 DEZ. 2007

sob responsabilidade do Dr. Luiz Edmundo Mazzoleni, e será identificado por um número de amostra, sem nome, ficando a codificação sob responsabilidade da equipe de pesquisa.

Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

Assinatura dos participantes:

PACIENTE

\_\_\_\_\_

TESTEMUNHA (nos casos especiais)

\_\_\_\_\_

INVESTIGADOR

\_\_\_\_\_

ORIENTADOR / COORDENADOR DO PROJETO

\_\_\_\_\_

**Identificação dos pesquisadores responsáveis:**

Dr. Luiz Edmundo Mazzoleni  
 Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
 R. Ramiro Barcelos, 2350  
 90035-003 – Porto Alegre – RS  
 Telefone: (51) 21018307

Daniel Simon  
 Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular - Universidade Luterana do  
 Brasil  
 Av. Farroupilha, 8001 – Prédio 22 – 5 andar  
 92425-900 – Canoas – RS  
 e-mail: daniel.simon@ulbra.br  
 Telefone: 34774000 r. 2668 / (51) 9203 7607

Versão TCLE 2.0 (Corrigido) - 19 de dezembro de 2007

HCPA / GPPG  
 VERSÃO APROVADA

26.10.2007  
 WM 07590

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**PESQUISA:** Influências genéticas na taxa de erradicação do *Helicobacter pylori* e nos sintomas clínicos em pacientes com dispepsia funcional

G.P.P.G.: \_\_\_\_\_ FICHA # \_\_\_\_\_

PACIENTE \_\_\_\_\_

**JUSTIFICATIVA:**

A dispepsia funcional é uma doença muito freqüente, assim como a infecção pela bactéria *Helicobacter pylori*. Ainda não foi definido se a erradicação da bactéria beneficia os sintomas da doença. Essa pesquisa irá avaliar se fatores genéticos interferem na erradicação do *Helicobacter pylori* e na melhora dos sintomas de pacientes com dispepsia funcional.

Os participantes deste estudo serão pacientes com dispepsia funcional, portadores do *Helicobacter pylori*, atendidos no HCPA e participantes do estudo clínico "Erradicação do *Helicobacter pylori* na dispepsia funcional" aprovado no GPPG do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (n° 05-422). Será realizada uma coleta de sangue para obtenção de material genético (DNA) e realizadas análises moleculares de segmentos do DNA (genes) que podem influenciar na terapia de erradicação do *Helicobacter pylori*.

A assinatura desse consentimento informado dará autorização aos pesquisadores do estudo de utilizarem os dados obtidos somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

**DECLARAÇÃO:**

Eu, \_\_\_\_\_ fui informado(a) dos objetivos e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada, conforme especificados no "Convite para Participar do Estudo" (em anexo).

Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa durante o andamento da mesma.

O profissional \_\_\_\_\_ certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado(a) que minha participação no estudo é isenta de despesas, não acarretando qualquer custo com relação aos procedimentos laboratoriais efetuados com o estudo.

Quanto ao material genético (DNA) coletado para esta pesquisa, declaro que:

( ) autorizo seu armazenamento e utilização em outras pesquisas, aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, sem a necessidade de que o pesquisador responsável entre em contato comigo para obtenção de novo consentimento.

( ) autorizo seu armazenamento, sendo que a sua utilização em outras pesquisas, aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, somente poderá ocorrer se o pesquisador responsável entrar em contato comigo para obtenção de novo consentimento

( ) não autorizo o seu armazenamento.

Tenho a garantia, caso autorize o armazenamento do material genético (DNA), de que este será armazenado no Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.